

Aus dem Institut und Poliklinik für Arbeits-, Sozial- und Umweltmedizin

Ludwig-Maximilians-Universität München

Direktor: Prof. Dr. med. Dennis Nowak

# **Gesundheitliche Auswirkungen von Laserdruckeremissionen bei Gesunden und Personen mit anamnestischen Beschwerden**

Dissertation

zum Erwerb des Doktorgrades der Humanbiologie

an der Medizinischen Fakultät der

Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Myriam Katharina Ehret

aus

München

2014



Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der Universität München

Berichterstatter: PD Dr. rer. nat. Rudolf A. Jörres

Mitberichterstatter: Priv. Doz. Dr. med. Holger Dressel  
Prof. Dr. med. Bernhard Liebl

Mitbetreuung durch den  
promovierten Mitarbeiter: Dr. rer. nat. Rudolf Schierl

Dekan: Prof. Dr. med. Dr. h. c. Maximilian Reiser, FACR, FRCR

Tag der mündlichen Prüfung: 05.11.2014



## Eidesstattliche Versicherung

Ich erkläre hiermit an Eides statt, dass ich die vorliegende Dissertation mit dem Thema

*Gesundheitliche Auswirkungen von Laserdruckeremissionen bei Gesunden und Personen  
mit anamnestischen Beschwerden*

selbständig verfasst, mich außer der angegebenen keiner weiteren Hilfsmittel bedient und alle Erkenntnisse, die aus dem Schrifttum ganz oder annähernd übernommen sind, als solche kenntlich gemacht und nach ihrer Herkunft unter Bezeichnung der Fundstelle einzeln nachgewiesen habe.

Ich erkläre des Weiteren, dass die hier vorgelegte Dissertation nicht in gleicher oder in ähnlicher Form bei einer anderen Stelle zur Erlangung eines akademischen Grades eingereicht wurde.

München, den 27.05.2014

Myriam Katharina Ehret



Meiner Familie und meinem Freund Alexander





## Abkürzungsverzeichnis

AST	Probanden der Gruppe Asthma-Patienten
ATS	American Thoracic Society
BAM	Bundesanstalt für Materialforschung und -prüfung
BET	Probanden der Gruppe Betroffene
BMI	Body mass index
°C	Grad Celsius
CAUS	Skalen zur chemischen Geruchssensitivität
cm	Zentimeter
CO <sub>2</sub>	Kohlendioxid
CO	Kohlenmonoxid
COe	exhalierendes Kohlenstoffmonoxid
DGUV	Deutsche Gesetzliche Unfallversicherung
DLCO	Diffusionskapazität für CO
DLCO/VA	Diffusionskapazität für CO, korrigiert für Alveolarvolumen
DLNO	Diffusionskapazität für NO
DLNO/VA	Diffusionskapazität für NO, korrigiert für Alveolarvolumen
EBC	Atemkondensat (exhaled breath condensate)
ECP	Eosinophiles Kationisches Protein
EEPS™	Engine Exhaust Particle Sizer
FEV <sub>1</sub>	forciertes Einsekundenvolumen
FMPS™	Fast Mobility Particle Sizer
FP	Feine Partikel
FVC	forcierte Vitalkapazität
GES	Probanden der Gruppe „Gesunde“
H	Stunde
H <sub>2</sub> O	Wasser
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Wasserstoffperoxid
HE	High Emitter
HYP	Probanden der Gruppe „Hyperreagible“
ITGV	intrathorakales Gasvolumen
kg	Kilogramm
kU	Kiloeinheiten
L	Liter
LDS	Laserdrucksysteme
LE	Low Emitter
LMU	Ludwig-Maximilians-Universität München
m/m <sup>3</sup>	Meter/Kubikmeter
M	Männlich
max	Maximum
MCH	Methacholin
MCS	multiple chemische Sensitivität
min	Minuten

mL	Milliliter
µg	Mikrogramm
µL	Mikroliter
µm	Mikrometer
mmHg	Millimeter Quecksilbersäule
n	Anzahl
NaCl	Kochsalz
NHYP	Probanden der Gruppe „nicht Hyperreagible“
nm	Nanometer
NO	Stickstoffmonoxid
NO <sub>alv</sub>	alveoläres Stickstoffmonoxid
NO <sub>bro</sub>	bronchiales Stickstoffmonoxid
O <sub>2</sub>	Sauerstoff
O <sub>3</sub>	Ozon
PANAS	Skalen zu positiver und negativer Affektivität
PER <sub>10</sub>	Prüfparameter für Drucker (Blauer Engel)
PM <sub>2.5</sub>	Partikel mit aerodynamischem Durchmesser <2,5µm
PM <sub>10</sub>	Partikel mit aerodynamischem Durchmesser <10µm
ppb	parts per billion
ppm	parts per million
ROS	reaktive Sauerstoffspezies
R <sub>tot</sub>	Atemwegswiderstand
S	Sekunde
SBS	Sick Building Syndrome
SD	Standardabweichung (standard deviation)
sMCS	selbstberichtete multiple chemische Sensitivität
SMPS <sup>TM</sup>	Scanning Mobility Particle Sizer
sR <sub>tot</sub>	spezifischer Atemwegswiderstand
sVOCs	semivolatile Kohlenwasserstoffe
UFP	ultrafeine Partikel
VA	Alveolarvolumen
VOCs	flüchtige Kohlenwasserstoffe
VU	Voruntersuchung (Screening-Visite)
W	weiblich

# Inhaltsverzeichnis

A Einleitung.....	9
II Umweltbelastungen an Büroarbeitsplätzen.....	11
III Belastung durch Druckeremissionen.....	13
1.    Gebräuchliche Druckverfahren .....	13
2.    Definition Druckeremissionen.....	14
3.    Bisherige Forschung zur Wirkung von UFP aus Laserdruckern .....	15
4.    Öffentliches Interesse am Thema.....	17
IV Gesundheitliche Relevanz von UFP .....	19
1.    Inhalation und Deposition von UFP.....	19
2.    Biologische Wirkungen .....	20
B Vorstudie .....	23
I Ziel und Durchführung.....	25
II Spezifische Hypothesen.....	27
III Methoden .....	29
1.    Inhalation hypertoner Kochsalzlösung .....	29
2.    Inhalation von Sauerstoff .....	30
3.    Untersuchte Parameter.....	31
a)    Exhalirtes NO .....	31
b)    Wasserstoffperoxid in der Ausatemluft .....	33
a)    Kombinierte Diffusionskapazität für NO und CO.....	36
4.    Statistische Auswertung .....	38
IV Ergebnisse .....	39
V Bedeutung der Ergebnisse .....	43
C Hauptstudie .....	45
I Allgemein.....	45
II Probandengruppen und Rekrutierung .....	47
1.    Gesunde mit normoreagiblem Bronchialsystem.....	47
2.    Gesunde mit hyperreagiblem Bronchialsystem .....	48
3.    Asthma-Patienten.....	48
4.    Betroffene.....	48
III Studiendesign .....	51
1.    Untersuchte Parameter.....	51
1.1    Klinische Parameter.....	52

a)	Exhalierendes CO .....	52
b)	Exhalierendes NO.....	52
c)	Kombinierte Diffusionskapazität für NO und CO .....	54
d)	Spirometrie und Bodyplethysmographie.....	54
e)	Bronchiale Provokation mit Methacholin.....	56
f)	Wasserstoffperoxid in der Ausatemluft.....	57
g)	Entzündungsmarker in Blut und Nasensekret .....	59
h)	ECP und Gesamt-IgE im Blut .....	61
i)	8-OHdG im Blut .....	62
j)	Elektrokardiogramm .....	63
1.2	Kognitive Leistungstests.....	65
a)	Aufmerksamkeits- und Belastungstest .....	65
b)	Benton-Test.....	66
c)	Labyrinth-Test .....	67
1.3	Fragebögen .....	69
a)	Druckerkontakt .....	69
b)	Vorerkrankungen und Rauchen .....	69
c)	CAUS und PANAS.....	69
d)	Symptomskalen.....	70
e)	Wohlbefinden in der Kammer .....	70
2.	Zeitprotokoll.....	71
3.	Expositionsdesign.....	73
a)	Expositionskammer.....	73
b)	Drucker, Druckprogramm und Emissionen.....	75
c)	Druckmuster.....	81
d)	Probandenanweisung .....	81
4.	Monitoring der Expositionen .....	82
a)	Raumklima .....	82
b)	Druckintervall.....	86
c)	Partikelemission.....	87
III	Statistische Auswertung.....	89
D	Ergebnisse.....	91
I	Rekrutierungserfolg und Kollektivanalyse .....	91
II	Fragebögen .....	93

1. Psychologische Fragebögen.....	93
2. Wohlbefinden und Symptomfragebögen.....	95
3. Vorerkrankungen und Rauchen.....	105
4. Bisherige Druckerexposition.....	107
5. Charakterisierung der Betroffenen .....	108
III Klinische Parameter .....	111
1. Exhalierete Parameter.....	111
a) CO .....	111
b) NO.....	113
2. Spirometrie und Bodyplethysmographie .....	115
3. Diffusionskapazitäten .....	118
4. ECP und Gesamt-IgE .....	122
5. Entzündungsmarker .....	124
a) H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> in der Ausatemluft .....	124
b) Marker in Blut und Nasensekret.....	126
IV Kognitive Leistungstests .....	131
E Diskussion .....	133
I Klinische Effekte der Laserdruckerexpositionen und Bedeutung für die Gesundheit .....	135
II Unterschiede der Probandengruppen.....	143
E Zusammenfassung.....	145
G Anhang .....	151
I Tabellen zu den klinisch-physiologischen Ergebnissen .....	153
II Fragebögen.....	171
III Druckmuster .....	193
IV Literatur im Expositionsraum .....	195
V Abbildungsverzeichnis.....	197
VI Tabellenverzeichnis.....	199
VII Literaturverzeichnis.....	201
H Danksagung.....	213

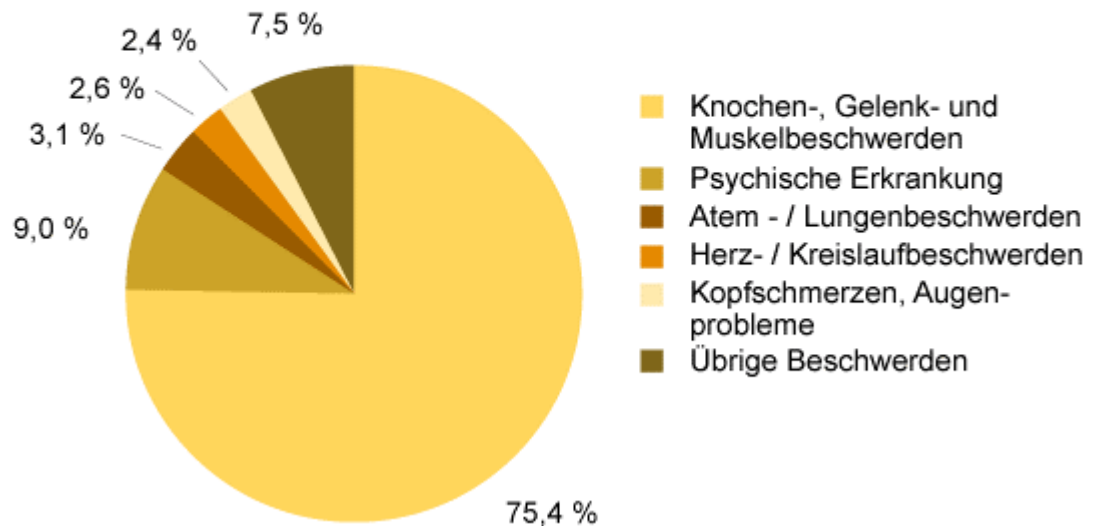


## A Einleitung

### I Gesundheitliche Beschwerden am Arbeitsplatz

Die Arbeitsmedizin kennt zahlreiche Berufskrankheiten und arbeitsplatzbedingte Belastungen. Vornehmlich denkt man hierbei an die Exposition gegenüber Noxen wie Metall- oder Holzstäuben bei der Bearbeitung dieser Materialien in Fertigungsbetrieben oder an starke körperliche Anstrengung. Die Zusatzerhebung zur EU-harmonisierten Arbeitskräfteerhebung des Statistischen Bundesamtes ergab, dass „schwierige Körperhaltungen und das Hantieren mit schweren Lasten“ die häufigsten körperlichen Belastungsfaktoren der Arbeit waren [1]. Die meistgenannten Gesundheitsbeschwerden am Arbeitsplatz sind laut dieser Umfrage Knochen-, Gelenk- und Muskelbeschwerden, siehe Abbildung 1. Dies stimmt mit den Ergebnissen des Gesundheitsreports der Techniker Krankenkasse (TK) überein: die meisten Krankschreibungstage entfielen 2012 auf Erkrankungen des Bewegungsapparates [2].

**Arbeitsbedingte Gesundheitsbeschwerden  
Erwerbstätiger 2007**



*Abbildung 1: Ergebnisse der Arbeitskräfteerhebung 2007. Anteil an allen Erwerbstätigen mit Gesundheitsbeschwerden. [1]*

Auch das Ausmaß an psychischen Fehlbelastungen hat in den vergangenen Jahren zugenommen [3]. Der Gesundheitsreport der TK zeigt, dass seit dem Jahr 2000 die Anzahl der Fehltag aufgrund psychischer Erkrankungen um 85% gestiegen ist [2].





## II Umweltbelastungen an Büroarbeitsplätzen

Gesundheitliche Beschwerden an Büroarbeitsplätzen sind keine Seltenheit. Viele Beschäftigte leiden unter - häufig unspezifischen - arbeitsplatzbezogenen Beschwerden. Nicht immer gelingt eine Verknüpfung mit klinischen Diagnosen wie allergischem Asthma oder einer Erkrankung des Bewegungsapparates. Der Begriff „Sick Building Syndrome“ (SBS) beschreibt das Auftreten unspezifischer Symptome wie Müdigkeit, Kopfschmerz oder Haut- und Schleimhautreizungen bei Personen, die in einem Gebäude arbeiten. Die Symptome treten nur während des Aufenthalts dort auf. Meist wird die auslösende Noxe nicht gefunden und es lässt sich kein kausaler Zusammenhang zwischen den Beschwerden und einer klinischen Diagnose oder abweichenden Laborwerten plausibel machen.

Viele Studien haben den Zusammenhang von Raumbedingungen und Auftreten der Beschwerden untersucht. Tietjen et al. berichteten, dass Kopfschmerzen häufiger in Bürogebäuden mit schlechten Innenraumbedingungen angegeben wurden. Stiegen die CO<sub>2</sub>-Konzentrationen in der Raumluft über 800 ppm, so traten vermehrt Augenreizungen und Symptome des oberen Atmungstraktes auf [4]. Feuchtigkeit und Schimmel im Gebäude sind ebenfalls mit einem vermehrten Auftreten von Symptomen eines SBS verbunden [5]. Die Qualität der Raumluft in Bezug auf Frischluftzufuhr, Staubbelastung, Luftfeuchte und Temperatur spielt eine wesentliche Rolle [6]. Sowohl Gegenstände der Büroeinrichtung, Teppiche und Farben, die partikuläre oder gasförmige Substanzen in die Raumluft absondern, als auch von außen eindringende Abgase können die Symptome eines SBS auslösen [7-11].

In der Grenzwerteliste 2013 hat das Institut für Arbeitsschutz der Deutschen Gesetzlichen Unfallversicherung (IFA) die wichtigsten arbeitsplatzrelevanten Grenzwerte zu chemischen, biologischen und physikalischen Einwirkungen zusammengestellt [12]. Für Stäube bis zu 2,5 µm wird die von der Weltgesundheitsorganisation als Tageswert festgelegte Konzentration von 25 µg/m<sup>3</sup> [13] herangezogen. Die Autoren betonen jedoch, dass dieser Leitwert möglichst unterschritten werden sollte, da keine Schwellenkonzentration festgestellt werden konnte, unterhalb derer der Feinstaub keine gesundheitlichen Auswirkungen hat.

Für Innenraumarbeitsplätze gibt es spezielle Beurteilungswerte. Für die CO<sub>2</sub>-Konzentration, die auch ein Maß für die Effektivität der Raumlüftung ist, „gilt allgemein, dass eine Konzentration von 0,1 Volumen-% CO<sub>2</sub> (1000 ppm bzw. 1800 mg/m<sup>3</sup>) nicht überschritten werden sollte“ [12]. Die Konzentration an flüchtigen organischen Verbindungen kann nach dem fünfstufigen Konzept nach Seifert beurteilt werden [14].

Gelegentlich treten jedoch selbst bei optimalen Raumluftbedingungen Beschwerden auf. Keinesfalls sollte man dies als rein psychisches Problem ansehen. Laut Epstein et al. [15] zeigen die Ergebnisse psychologischer Tests keine Unterschiede zwischen Personen mit und ohne Beschwerden. Studien belegen jedoch, dass das psychosoziale Arbeitsumfeld einen Einfluss auf das Auftreten von Symptomen eines SBS hat: Stress am Arbeitsplatz und unzureichende soziale Eingliederung sind Risikofaktoren, genauso wie die Veranlagung zu allergischen Erkrankungen [16, 17]. Edvardsson et al. [18] schlussfolgerten nach einer Befragung von Personen mit Gebäude-assoziierten Symptomen, dass bestimmte Persönlichkeitseigenschaften das Risiko

erhöhen, Stress am Arbeitsplatz zu erleben. Dies könne die Empfänglichkeit für arbeitsplatzbedingte Belastungen erhöhen.

Zahlreiche Studien untersuchten auch Geschlechterunterschiede in Hinsicht auf das SBS. Eine Literaturzusammenfassung bezüglich des Temperaturkomforts liefert Karjalainen [19]: Frauen empfinden schneller ein Unbehagen, besonders in kühleren Räumen. Kinman et al. [17] fanden keine Unterschiede bezüglich des Auftretens selbstberichteter Symptome, allerdings hatten die Symptome bei Männern und Frauen einen unterschiedlichen Stellenwert. Nach Sahlberg et al. [20] traten bei Frauen häufiger Allgemeinsymptome und Reizungen der Schleimhaut auf. Eine Studie, in der Personen befragt wurden, die wegen ihrer Symptome beim Arzt vorstellig waren, wies entsprechend einen deutlich höheren Frauenanteil auf [21].

### III Belastung durch Druckeremissionen

Seit einigen Jahren häufen sich Beschwerden von Personen, die ihre Gesundheit durch Emissionen aus Büromaschinen mit auf Lasertechnik basierender Druckfunktion beeinträchtigt sehen. Zu diesen Geräten zählen Laserdrucker, Laser-Fotokopierer, Faxgeräte und Multifunktionsgeräte, die in dieser Studie zusammengefasst als Laserdrucksysteme (LDS) bezeichnet werden. LDS können im Gebrauch Gase wie z.B. Ozon, VOCs und SVOCs sowie feine und ultrafeine Partikel unterschiedlicher Zusammensetzung und Art in die Umgebung emittieren. Häufig wurden Erkrankungen wie z.B. Asthma, pseudoallergische Entzündungen der Atemwege, Haut- und Augenirritationen, Kopfschmerz und das SBS mit diesen Emissionen in Verbindung gebracht.

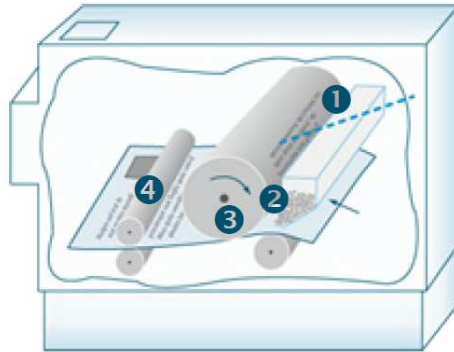
#### 1. Gebräuchliche Druckverfahren

In Büros als auch im Privatgebrauch werden zwei Druckverfahren verwendet. Beim Tintenstrahldruck bewegt sich ein Düsenkopf zeilenweise über das Papier und verspritzt aus sehr feinen Düsen Tintentropfen gezielt auf das Papier, das von einem Schrittmotor durch den Drucker gezogen wird. Die Tinte auf dem Papier trocknet anschließend. Auf diese Weise entsteht das Druckbild. Farbdrucke werden durch parallelen Betrieb von je einem Druckkopf für die Farben Schwarz, Rot, Blau und Magenta erzeugt. Bei Tintenstrahldruckern sind Partikelemissionen nicht beobachtbar.

Die prinzipielle Funktionsweise eines Laserdruckers ist in Abbildung 2 veranschaulicht. Die Bildtrommel wird vor dem Druck elektrostatisch homogen aufgeladen. Mit einem Laser oder einem LED-Array wird dann das Druckbild auf die Trommel als elektrisches Raumladungsmuster übertragen. Die Trommel dreht sich an der Toner-Rolle vorbei und die entgegengesetzt geladenen Tonerteilchen werden dabei auf der Trommel dem Raumladungsmuster entsprechend abgelagert. Das Papier wird elektrisch aufgeladen und in Kontakt mit der Trommel gebracht. Die geladenen Tonerteilchen werden von der Trommel auf die Paperoberfläche gezogen. In der nachgelagerten Fixiereinheit wird der auf dem Papier befindliche Toner bei einer Temperatur von 150-180 Grad Celsius aufgeschmolzen und durch Druckwalzen dauerhaft fixiert. Vor Erzeugung einer neuen Seite wird die Bildtrommel entladen und der überschüssige Toner entfernt. Farblaserdrucker arbeiten nach dem gleichen Prinzip, mit dem Unterschied, dass vier Tonerkartuschen inklusive Bildtrommeln in einer Revolver- oder Tandem-Anordnung die farbigen Tonerpulver direkt oder über ein Transportband auf das Papier aufbringen [22].

Der elektrische Ladungstransfer erfolgt in modernen LDS häufig mit der Transferrollertechnologie. Dadurch wird ein Koronaeffekt weitestgehend vermieden, der bei älteren Laserdruckern und Kopiergeräten während des Druckens bzw. Kopierens zur Bildung von Ozon führt. Moderne LDS - auch diejenigen mit Koronadraht-Technologie - emittieren in nur sehr geringem Maß Ozon, und die vorgeschriebenen Grenzwerte werden erheblich unterschritten. Handelsübliches schwarzes Tonerpulver besteht aus Harzpartikeln mit Durchmessern von einigen Mikrometern, in die Kohlenstoff und/oder zum Teil magnetisierbare Metalloxide oder andere Schwarzpigmente eingebettet sind. Farbigen Tonerpulvern sind spezielle Farbpigmente

beigefügt. Originaltoner werden nach den Richtlinien der Europäischen Gemeinschaften (88/379/EWG, ab 30.7.2002: 1999/45/EG, mit Ergänzungen) und der Gefahrstoffverordnung qualifiziert und auf die Einhaltung von für Gesundheit und Arbeitsplatzsicherheit relevanten Standards überprüft.



- ❶ Laserstrahl oder LED „schreibt“ Druckbild auf die Bildtrommel
- ❷ An elektrostatisch geladenen Stellen haften Tonerpartikel an
- ❸ Toner wird auf das Papier übertragen
- ❹ Toner wird unter Druck und Wärme zum Druckbild fixiert (aufgeschmolzen)

*Abbildung 2: Funktionsweise eines Laserdruckers [23]*

## **2. Definition Druckeremissionen**

Während des oben beschriebenen Laserdruckvorgangs werden volatile Substanzen aus dem Papier, dem Tonerpulver und der Fixiereinheit verdampft und als Gase freigesetzt. Einige dieser Gase bleiben nicht in der Gasphase, sondern bilden durch Abkühlung und Rekondensation oder auch durch chemische Reaktionen in einem komplexen Prozess Partikel. Voraussetzungen für die Partikelbildung sind hohe Gaskonzentrationen und effektive Abkühlung. Auch durch den mechanischen Stress des Papiers (Walken, Abrieb) entstehen Partikel. Durch den in LDS vorhandenen Luftstrom werden die Partikel als Aerosole aus den Gehäusen heraus transportiert und gelangen in die Umgebung.

Die Bundesanstalt für Materialforschung und -prüfung (BAM) sowie weitere Institutionen haben die chemische Zusammensetzung der emittierten Partikel für einige im Handel befindliche Laserdrucker analysiert [24, 25]. Demnach bestehen die Partikel überwiegend aus semivolatilen Kohlenwasserstoffen (SVOCs) und/oder Siloxanen, ferner sind die Elemente Si, Fe, Ca, Zn, Cr, S, und Cl nachweisbar. Eine Liste der Bestandteile der Aerosole der bei den Expositionen verwendeten Drucker ist in Tabelle 9 zusammengestellt.

Die Durchmesser der Partikel liegt zwischen 7 und 300 nm, d.h. im Bereich der ultrafeinen (UFP) und feinen (FP) Partikel. Tonerteilchen mit Durchmessern  $> 1 \mu\text{m}$ , so wie sie in den Tonerkartuschen als Pulver vorhanden sind, tragen zur Anzahl emittierter Partikel praktisch nicht bei.

Die Partikelemission aus LDS kann durch das zeitabhängige Partikelgrößenspektrum, die zeitabhängige Partikelanzahlkonzentration sowie die Partikelemissionsrate beschrieben werden. Die entsprechenden Werte sind bei gleichbleibenden Randbedingungen und Betriebsbedingungen reproduzierbar und jeweils kennzeichnend für ein LDS. Partikelemissionsraten verschiedener LDS-Typen können sich um mehrere Größenordnungen unterscheiden [26, 27].

### **3. Bisherige Forschung zur Wirkung von UFP aus Laserdruckern**

Hinweise auf eine besondere Wirksamkeit ultrafeiner Partikel beim Menschen ergeben sich aus epidemiologischen Untersuchungen zur Verunreinigung der Luft durch Aerosole. In Innenräumen, an Arbeitsplätzen sowie generell in der Umwelt werden Fein- und Ultrafeinstäube daher als potentiell gesundheitsgefährdend betrachtet [28-34].

Die möglichen Auswirkungen von Laserdruckeremissionen auf die menschliche Gesundheit wurden bislang nur unzureichend untersucht. Die Forschung befasste sich vor allem mit dem Tonerpulver. Diesem sind in relevantem Maße aber allenfalls Personen ausgesetzt, die mit der Tonerproduktion oder der Wartung der Geräte beschäftigt sind. Es gibt zahlreiche *in vitro*-Studien und Tierversuche, in denen Tonerpulver direkt instilliert wurde. Hierbei ist zu bemerken, dass die eingesetzten Konzentrationen in der Regel bei weitem diejenige Menge an Toner übersteigen, die ein Mensch durch Einatmung aufnehmen könnte.

Eine höhere und weiter reichende gesundheitliche Belastung könnte von den Partikeln und VOCs ausgehen, die beim Drucken selbst erzeugt und abgegeben werden. Zahlreiche Einzelfallberichte beschreiben das Auftreten von klinischen Symptomen nach der Exposition gegenüber Druckeremissionen, allerdings fügen sie sich bislang nicht zu einem kohärenten, pathophysiologisch plausiblen Bild zusammen; dennoch gibt es einzelne hinweisende Befunde.

So litt eine 44-jährige Nichtraucherin, die acht Jahre lang als Sekretärin in einer Grundschule gearbeitet hatte, seit 2 Jahren an Rhinorrhoe, Dyspnoe und Hustenattacken. Diese Symptome traten fünfzehn bis zwanzig Minuten nach dem Anfertigen von Schwarz-Weiß-Kopien auf. Der verwendete Toner enthielt Polystyren-n-butyl Methacrylat. Die Ergebnisse der Voruntersuchungen der Patientin waren unauffällig bis auf den Nachweis einer bronchialen Hyperreaktivität im Histamin-Provokationstest. Die Patientin wurde im Folgenden verschiedenen Einzelsubstanzen des Toners und einem Placebo ausgesetzt. Außerdem wurde eine Bürosituation nachgestellt, in der sie dreißig Minuten lang Schwarz-Weiß-Kopien anfertigen musste. Nach achtzehn Minuten zeigte die Patientin Dyspnoe und ein um 21% reduziertes forciertes expiratorisches Einsekundenvolumen ( $\text{FEV}_1$ ). Binnen einer Stunde fiel es um 24%. Bei der isolierten Exposition gegenüber Methylmethacrylat reduzierte sich das  $\text{FEV}_1$  um 30% binnen einer Stunde. Die Tests mit anderen Tonerbestandteilen und dem Placebo verursachten weder klinische noch spirometrische Veränderungen.

Die Analyse der nach Bürosimulation sowie Methacrylatexposition gewonnenen Nasenlavageflüssigkeit zeigte einen Anstieg der Zahl der eosinophilen Granulozyten und des Permeabilitätsindex [35].

Eine weitere Fallbeschreibung berichtet von einer 44-jährigen Frau, die sechs Jahre lang in einem Kopierladen gearbeitet hatte und unter produktivem, nicht-purulentem Husten, Kopfschmerzen und anstrengungsabhängiger Dyspnoe litt. In Röntgenaufnahmen der Lunge zeigte sich ein diffuses interstitielles mikronoduläres Muster. Lungenfunktionstests ergaben eine periphere Obstruktion, fortschreitende Restriktion und eine verminderte CO-Diffusionskapazität. In Lungenbiopsieproben fand man geringgradige interstitielle Fibrose und eisenpigmenthaltige Makrophagen. Das Biopsiematerial und Kopierstaub vom Arbeitsplatz der Patientin wurden elektronenmikroskopisch untersucht. Da in beiden Proben Silizium und Eisen aufgefunden wurden, nahmen die Autoren eine durch Tonerpartikel verursachte Siderosilikose an [36].

Eine weitere Fallbeschreibung betraf eine 39-jährige Nichtraucherin, die eineinhalb Jahre in einer Zeitungsagentur arbeitete. Sie litt seit einem Jahr unter trockenem Husten und anstrengungsabhängiger Dyspnoe. Auf Röntgenaufnahmen zeigten sich ein mikronoduläres interstitielles Muster und eine Vergrößerung der Hilus- und Mediastinallymphknoten. Lungenfunktionstests ergaben eine periphere Obstruktion und reduzierte CO-Diffusionskapazität. In der histologischen Untersuchung von Lungen- und Lymphknotengewebe wurden nicht nekrotisierende Granulome mit Epitheloid- und Langerhansschen Riesenzellen, sowie pigmenthaltige Makrophagen gefunden. Die Analyse von Toner und Lungenbiopsieproben ergab Übereinstimmungen bei den Elementen Silizium und Kupfer, weshalb die Autoren Tonerpartikel als Ursache für die granulomatöse Pneumonitis und mediastinale Lymphadenopathie ansahen [37].

Die Autoren vermuteten, dass die Metalle im Toner indirekt toxisch wirken könnten, indem sie an Proteine binden und so ein Antigen bilden, welches eine spezifische zelluläre Immunantwort induziert [38].

Die beiden letzten Fallbeschreibungen beziehen sich auf die Exposition gegenüber originärem Tonerstaub. Der Großteil der Personen, die mit Laserdruckern und -kopieren arbeiten, hat jedoch kaum Umgang mit den Kartuschen und dem darin enthaltenen Pulver. Sie sind vielmehr gegenüber den beim Druckvorgang entstehenden Substanzen exponiert.

In einer kürzlich erschienenen Studie wurden neun Personen in einem Copyshop mehrere Stunden den Druckeremissionen ausgesetzt, jedoch waren die Bedingungen nicht standardisiert und eine Kontrollexposition bei ausgeschalteten Druckern fehlte. Wie hoch die Exposition einer Einzelperson war, unterlag starken Schwankungen. Dies war in der verwendeten Expositionssituation unvermeidlich, da immer wieder die Tür des Ladens geöffnet wurde und der Anfall von Druckaufträgen stark schwankte. Die Untersucher fanden einen Anstieg von 8-OhdG im Urin als Marker des oxidativen Stresses sowie von proinflammatorischen Zytokinen in der Nasenlavage der Testpersonen [39]. Die Forschungsgruppe untersuchte auch zyto- und genotoxische Effekte der emittierten Partikel auf verschiedene Zelllinien und beobachtete hier einen Konzentrationsanstieg pro-inflammatorischer Zytokine [40].

Gut standardisierte Untersuchungen am Menschen unter realitätsnahen Bedingungen und für eine große Gruppe, die Betroffene miteinschließt, fehlen bislang. Mersch-Sundermann et al. [41]

fürten eine Pilotstudie durch, in der sie sechs Personen gegenüber Laserdruckern exponierten. Es erfolgten umfangreiche Messungen der Raumluft sowie von Lungenfunktionsparametern und Entzündungsmarkern. Die Ergebnisse der klinischen Untersuchungen waren für die sechs untersuchten Probanden nicht einheitlich. Die Exposition einer größeren Gruppe und Hinzunahme weiterer Messgrößen schien daher sinnvoll.

#### **4. Öffentliches Interesse am Thema**

In den vergangenen beiden Jahrzehnten gerieten Laserdruckgeräte vermehrt in den Fokus öffentlichen Interesses. Der früheste Fallbericht, der im Rahmen der Recherche für diese Studie gefunden wurde, stammt aus dem Jahre 1976 [42]. Mitarbeiter eines Postamtes hatten über juckenden Hautausschlag im Gesicht, Augenreizung und Kopfschmerzen geklagt. Erst zwei Jahre später, als dieselben Beschwerden in einem anderen Büro aufgetreten waren, schloss man auf einen Zusammenhang mit Photokopierern, die im Raum aufgestellt und mit jeweils demselben Tonertyp betrieben worden waren. Die genaue Zusammensetzung des damals verwendeten Flüssigtoners wurde nicht untersucht, ebenso nicht, ob die Geräte Ozon emittierten. In Allergietests und Untersuchungen von Büroausstattung, Raumklima und verwendeten Reinigungsmitteln hatten sich keine Auffälligkeiten gezeigt, so dass auf einen Zusammenhang mit den im Raum aufgestellten Kopierern geschlossen wurde. Für die Autoren schien eine Veröffentlichung sinnvoll, da sie davon ausgegangen waren, dass ähnliche Fälle auch in Zukunft auftreten könnten.

In den letzten Jahren berichteten Fernsehbeiträge über Büroangestellte, die im Zusammenhang mit den Geräten gesundheitliche Beschwerden äußerten [43, 44]. Hier wurde jedoch primär über Tonerstaub, also das in den Kartuschen enthaltene Pulver, gesprochen. Wenn Ergebnisse aus Tierversuchen herangezogen wurden, in denen große Mengen des Tonerpulvers direkt in die Lunge instilliert wurden und daraus auf die Büroexposition extrapoliert wird, liegt dem eine für die Exposition der weitaus meisten Betroffenen inadäquate Vorstellung zugrunde. Der Artikel „Toner im Tumor“ [45] berichtete über einen an Lungenkrebs verstorbenen Servicetechniker, der mit den Tonerkartuschen gearbeitet hatte. Bei der elektronenmikroskopischen Untersuchung fand man Tonerpartikel in den Tumorzellen.

Büroangestellte, die über Beschwerden im Zusammenhang mit Laserdruckern klagen, kommen normalerweise nicht mit den Tonerkartuschen in Berührung. Es stellt sich also die Frage, ob Gesundheitsbelastungen durch die nanopartikulären Emissionen, die beim Betrieb entstehen, auftreten und wie sie vermieden werden könnten.

Wie die Hannoversche Allgemeine am 17.11.2012 berichtete, ließ das niedersächsische Justizministerium 4033 Drucker wegen ihrer Nanopartikel-Emissionen ersetzen [46]. Verbraucher hatten bisher keinen Einblick in die von verschiedenen Laserdruckern abgegebenen Mengen an Nanopartikeln und deren Zusammensetzung, da beispielsweise in den bisherigen Prüfkriterien für das Umweltsiegel „Blauer Engel“ diese Partikel nicht eingeschlossen sind. Das Umweltbundesamt hat die Vergabegrundlage des „Blauen Engels“ für Laserdrucker nun

überarbeitet. Vermutlich werden die meisten auf dem Markt befindlichen Geräte diese Kriterien nicht erfüllen [26, 47].

Die „Interessengemeinschaft Tonergeschädigter“ hat eine Fallsammlung von inzwischen über 2500 Personen erstellt, die über gesundheitliche Beschwerden im Zusammenhang mit Laserdruckern klagen. Der Internetauftritt dieser Vereinigung bietet außerdem eine Übersicht aller zum Thema erschienenen Medienbeiträge [48]. Auch wenn diese Fallsammlung keine wissenschaftlichen oder gutachterlichen Kriterien erfüllen kann, zeigt sie doch, dass eine große, anhaltende Besorgnis existiert, deren wissenschaftlich stringente Bearbeitung geboten ist.



## IV Gesundheitliche Relevanz von UFP

In unserer Umwelt existiert ein immenses Spektrum an unterschiedlichen Aerosolen, bedingt durch vielfältige natürliche oder anthropogene Quellen wie beispielsweise Straßenverkehr, Verbrennungsvorgänge, Haushaltsgeräte oder Industrie. Sie unterscheiden sich in chemischer Zusammensetzung, Größe, Oberflächenbeschaffenheit, Ladung und Dichte. Die in der Umwelt vorkommenden Stäube lassen sich nach ihrer Größe in inhalierbaren Feinstaub (2,5-10  $\mu\text{m}$ ), lungengängigen Feinstaub (1-2,5  $\mu\text{m}$ ) und Nano- bzw. ultrafeine Partikel (UFP, <100 nm) unterteilen. Allen UFP gemeinsam ist die hohe chemische beziehungsweise katalytische Reaktivität aufgrund ihrer großen Partikeloberfläche in Verhältnis zum Volumen.

### 1. Inhalation und Deposition von UFP

Effekte wie die Brownsche Molekularbewegung spielen eine große Rolle bei der Deposition der UFP in der Lunge. UFP verbleiben allerdings nicht nur an der epithelialen Oberfläche der Alveolen, sondern können offenbar auch durch das Surfactant in die wässrige Phase eindringen. Sie sind dann nicht mehr für die mukoziliäre Clearance zugänglich (siehe Abbildung 3). Dort können sie von Makrophagen phagozytiert werden oder innerhalb einer Stunde die Epithelzellen penetrieren und ins tiefere Lungengewebe vordringen, wie für Titandioxid-Nanopartikel nachgewiesen wurde (Übersicht in [49]). Umgekehrt fanden Geiser et al. [50] in Versuchen mit radioaktiv markierten Nanopartikeln Hinweise auf ein Wiedererscheinen von im Interstitium abgelagerten Nanopartikeln auf der epithelialen Oberfläche. Es ist noch nicht nachgewiesen, ob dies auf einer Einwanderung von Makrophagen ins Interstitium beruht; dies wäre jedoch der wahrscheinlichste Mechanismus [51]. Diese Aussagen gelten primär für feste Partikel und es ist zu beachten, dass zumindest einige der Rekondensatpartikel von LDS flüssig sein können und sich daher möglicherweise eher auf der Oberfläche spreiten oder (partiell) lösen als in diese eindringen.

Wenn Partikel von der Lungenoberfläche ins Lungengewebe gelangen, können sie auch lymphatisch drainiert werden und ins Blutgefäßsystem gelangen. Dies erlaubt im Prinzip ihre Verteilung in alle Organe inklusive Zentralnervensystem, wie dies für Nanopartikel verschiedener Art vielfach gezeigt wurde. Eine Proteincorona aus mehr oder weniger fest an die Nanopartikel angehefteten Proteinen, die aus dem Serum oder anderen Körperflüssigkeiten wie der sogenannten lung lining fluid stammen, ermöglicht den Partikeln die Interaktion mit Zellen. Die Proteincorona charakterisiert die biologische Identität der Nanopartikel [52] und entscheidet über ihre subzelluläre Lokalisation. Sie ist keine starre Hülle; dies ist beim Übergang der Partikel vom Blut in ein Organ oder beim Transport vom Zytosol in den Zellkern von Bedeutung. Einige Nanopartikel binden an Apolipoproteine, die in Lipoproteinkomplexe eingebunden sind. Da viele Zelloberflächen Rezeptoren für Apolipoproteine haben, können Nanopartikel mit adsorbierten Apolipoproteinen auf diese Weise in Zellen eindringen. Apolipoprotein E ermöglicht auch den Übergang durch die Blut-Hirn-Schranke [52]. Die Lokalisation von Nanopartikeln in Organen ist jedoch nicht statisch, auch hier findet eine Clearance statt [51]. Diese Möglichkeiten sollen hier

nur angedeutet werden, da derzeit die experimentellen Daten fehlen, um aus ihnen für den Verbleib von Druckeremissionen sichere Schlüsse zu ziehen.

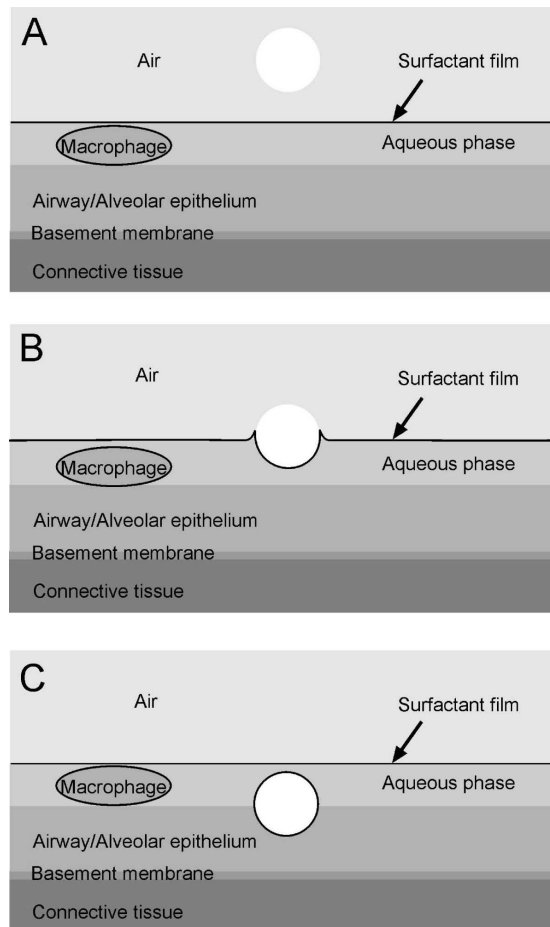


Abbildung 3: Teilbild A: Partikeldeposition und sofortige Befeuchtung, Teilbild B: beginnendes, Teilbild C: vollständiges Eindringen in die wässrige Phase [53]

## 2. Biologische Wirkungen

Als einer der wesentlichen Pathomechanismen der Wirkung von Nanopartikeln gilt die Bildung freier Radikale. Diese können auch direkt auf der Oberfläche der Partikel entstehen; beispielsweise können metallische Partikel als Katalysatoren fungieren. Radikale wie das Hydroxylradikal, das Superoxid-Anion und auch aus dem Superoxidanion gebildetes Wasserstoffperoxid lösen für Zellen oxidativen Stress aus. Sie können Makromoleküle wie Lipide, Proteine und Nukleinsäuren zerstören bzw. funktionell beeinträchtigen. Werden sogar die lysosomale Membran und Mitochondrien destabilisiert, kommt es zum Zelltod [54]. Die Oxidantien lösen oft eine entzündliche Reaktion aus, die nicht auf den Eintrittsort der Partikel beschränkt sein muss.

Über die Auslösung oxidativen Stresses hinaus sind weitere Mechanismen für die Pathogenität von Nanopartikeln verantwortlich. So kann bei Nanoröhrchen die nadelartige Form ein pathogener Faktor sein. Gereinigte einwandige Karbonröhrchen zeigten im Versuch mit Makrophagen keine zytotoxischen Effekte oder erhöhte Oxidantienproduktion, führten aber bei Mäusen, die sie inhalierten, zu interstitieller Fibrose [55]. Nanopartikel können durch Proteininteraktion zum Verlust der Sekundärstruktur von Proteinen führen [52]. Die Bindung an Proteine der Zellmembran kann deren Integrität stören und Apoptose bzw. Nekrose auslösen oder die Zellproliferation behindern [55, 56].

Die Einschätzung der Toxizität von Nanopartikeln beim Menschen ist derzeit jedoch schwierig. So wurde argumentiert [57], dass die geringe Zahl von Nanopartikeln in den sekundären Zielorganen nach Kurzzeiteexposition wahrscheinlich nicht zu negativen Gesundheitseffekten führe. Jedoch könnten Nanopartikel in den primären Aufnahmeorganen wie der Lunge zur Freisetzung von Mediatoren führen, die wiederum eine Schädigung des Herz-Kreislauf-Systems und des Immunsystems bewirken könnten. Auch könne eine chronische Exposition zur Akkumulation von Nanopartikeln in sekundären Zielorganen mit nachfolgender Schädigung führen. Derartige Mechanismen sind aufgrund der Beobachtungen an Feinstaub der Umwelt durchaus plausibel bzw. belegt.

In Versuchen mit dem sogenannten Langendorff-Herzen, einem außerhalb des Körpers autonom schlagenden Schweineherzen, konnten nach Perfusion mit verschiedenen Nanopartikel-Lösungen ein Anstieg der Herzrate, Arrhythmien, ein Anstieg des koronaren Flusses, ST-Hebungen und AV-Blockaden gezeigt werden. Dies beruhte auf einer Katecholamin-Ausschüttung aus Nervenendigungen der inneren Herzwand nach Partikel-Herzwand-Interaktionen [58]. Es sind also auch solche Aktionen auf Organe möglich, die nicht unmittelbar über eine Entzündung in der Lunge oder systemischer Art vermittelt sind.

Diese Überlegungen legen nahe, dass eine Untersuchung der Wirkung von UFP am Menschen ein breites Spektrum möglichst sensibler Methoden umfassen sollte, da es schwer ist, einen Effekt im Vorfeld als vermuteten Haupteffekt zu definieren. Diese Methoden sind auszuwählen anhand der Beobachtungen an Tieren, der pathophysiologischen Plausibilität, sowie vor allem der Symptome und Beschwerden, die von betroffenen Personen berichtet wurden. Zur Gewinnung biologischer Proben kommen aus Gründen der Akzeptanz und Praktikabilität nur nichtinvasive oder wenig invasive Verfahren in Frage; dies bedeutet allerdings nicht selten einen höheren technischen Aufwand als dies für mehr direkte Verfahren der Fall ist. Andererseits muss sich der Gesamtaufwand der eingesetzten Verfahren in Grenzen halten, alleine schon, um die Probanden nicht zu überfordern. Ferner erscheint es vorteilhaft, sich der Sensitivität der Methoden anhand anderer Stimuli als Druckeremissionen zu versichern. Der Studie mit Exposition freiwilliger Probanden gegenüber Druckeremissionen ging daher eine Studie voran, in der einige der eingesetzten Verfahren methodologisch überprüft wurden. Diese wird im Folgenden beschrieben.



## **B Vorstudie**

Neben der optimalen Gestaltung eines Expositionsszenarios für Laserdruckeremissionen war es ratsam, vor Studienbeginn die eingesetzten Messverfahren für einen Einsatz im Vorher-Nachher-Vergleich zu optimieren und zu prüfen. Hierzu erschien es hilfreich, gut definierte Expositionen zu wählen, deren Ergebnisse dann in Relation zu eventuellen Effekten der Laserdruckerexposition gesetzt werden können. Die Vergleichssubstanzen sollten ähnliche Pathomechanismen aufweisen wie für Nanopartikel vermutet, also unter anderem oxidativen Stress beinhalten. Ein einfach durchführbares Protokoll und eine minimale, ethisch vertretbare Belastung für den Probanden waren ebenso notwendige Voraussetzungen.

Die hierzu durchgeführte Vorstudie trug den Titel „Messungen des endogenen, exhalierten bronchialen und alveolären Stickstoffmonoxids sowie der Diffusionskapazität für Stickstoffmonoxid und Kohlenstoffmonoxid nach kurzzeitigem inhalativen osmotischen und oxidativen Stress“. Die Ergebnisse wurden 2012 auf dem Jahreskongress der European Respiratory Society (ERS) in Wien, sowie 2013 auf der 53. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Arbeitsmedizin und Umweltmedizin e.V. (DGAUM) in Bregenz und dem 54. Kongress der Gesellschaft für Pneumologie und Beatmungsmedizin e.V. (DGP) in Hannover vorgestellt [59]. Die eingesetzten Methoden inklusive Durchführung und Rationale sind für diese Vorstudie im Folgenden ausführlich beschrieben, um die Beschreibung für die eigentliche Druckerstudie knapper halten zu können.



## I Ziel und Durchführung

An 20 gesunden Probanden wurde die akute Wirkung der Inhalation von Sauerstoff sowie hypertoner Kochsalzlösung untersucht. Überprüft wurden die klinische Interpretierbarkeit und die Empfindlichkeit folgender nicht-invasiver pneumologischer Methoden in der Detektion des genannten inhalativen osmotischen und oxidativen Stresses:

- bronchiales und alveoläres Stickstoffmonoxid (NO) in der Ausatemluft
- alveoläre Diffusionskapazität für inhaliertes Stickstoffmonoxid und Kohlenstoffmonoxid (CO)
- exhalierendes Wasserstoffperoxid ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) im Atemkondensat
- konventionelle Lungenfunktion im Sinne der Spirometrie

Der Wahl der Stimuli lag die Annahme zugrunde, dass oxidativer Stress und Änderungen des peripheren Flüssigkeitshaushaltes der Lunge auch von Nanopartikeln durch die Bildung freier Radikale ausgelöst werden könnten.

Die Studie wurde von der Ethikkommission der Medizinischen Fakultät der LMU für unbedenklich befunden und durch die Deutsche Gesetzliche Unfallversicherung (DGUV), Berlin im Rahmen des Gesamtprojektes gefördert.

### Einschlusskriterien

Eingeschlossen wurden nur lungengesunde Erwachsene, die seit mindestens 2 Jahren Nicht-raucher waren und nicht unter Allergien litten. Das bronchiale NO und die NO- sowie CO-Diffusionskapazität mussten im Normbereich liegen.

### Studienprotokoll

Es fanden zwei Visiten statt. Um circadiane Effekte zu vermeiden, wurden die Probanden für beide Visiten jeweils zur selben Uhrzeit einbestellt. Die Termine hatten einen Mindestabstand von zwei Tagen, um eine Überlagerung von Effekten zu vermeiden. Die Reihenfolge der Expositionen gegenüber Sauerstoff und hypertoner Kochsalzlösung war randomisiert.

Jeder Proband absolvierte das in Tabelle 1 abgebildete Studienprotokoll.

*Tabelle 1: Studienprotokoll der Vorstudie.*

Sammlung von Atemkondensat	
Exhalierendes CO; exhalierendes NO bei verschiedenen Ausatemraten	
Spirometrie; Messung der Diffusionskapazitäten für NO und CO	
Inhalation von 100% Sauerstoff bei einem Fluss von 5L/min für 30 Min.	Inhalation von 3%iger Kochsalzlösung über einen Ultraschallvernebler für 20 Min.
Spirometrie	
Sammlung von Atemkondensat	
Exhalierendes CO; exhalierendes NO bei verschiedenen Ausatemraten	
Messung der Diffusionskapazitäten für NO und CO	



## II Spezifische Hypothesen

Auf der Basis bekannter oder plausibler Pathomechanismen wurde erwartet, dass die Konzentration des alveolären NO nach Sauerstoffgabe reduziert sein könnte (oxidatives Abfangen von NO), hingegen nicht oder nur geringfügig verändert ist nach Inhalation von Kochsalzlösung (geringe Transportstörung für NO aus dem Blut in Auswärtsrichtung).

Das bronchiale NO sollte nach Inhalation hypertoner Kochsalzlösung reduziert sein (Transportstörung des NO aus der Schleimhaut) und möglicherweise ebenfalls, jedoch in deutlich geringerem Maße, nach Gabe von Sauerstoff (oxidatives Abfangen von NO).

Das exhalierte Wasserstoffperoxid, das überwiegend aus den Bronchien und nicht den Alveolen stammt, sollte bei Sauerstoffgabe erhöht (oxidativer Stress in den Atemwegen), bei Kochsalzgabe hingegen reduziert sein (Transportstörung aus der Schleimhaut der Atemwege).

Die CO-Diffusionskapazität (DLCO) sollte nach Kochsalzgabe im Wesentlichen unverändert bleiben sowie nach Sauerstoffgabe möglicherweise transient abnehmen, da sie primär durch die Gefäßreaktion bzw. das verfügbare Hämoglobin bestimmt ist. Die NO-Diffusionskapazität (DLNO) sollte nach Gabe von Kochsalzlösung leicht reduziert sein (Transportstörung für inhaliertes NO durch vermehrte Flüssigkeit in der Lungenperipherie), nicht hingegen nach Gabe von Sauerstoff (oxidativer Stress bei den hohen Konzentrationen des inhalierten NO irrelevant).



### III Methoden

#### 1. Inhalation hypertoner Kochsalzlösung

Dieses Verfahren wird klinisch zur Sputuminduktion sowie zur Untersuchung auf bronchiale Hyperreagibilität verwendet und kann auch bei Gesunden zu (geringgradiger) bronchialer Obstruktion führen [60, 61]. Entsprechend wurde ein Bronchodilatator bereitgehalten.

Die Inhalation hypertoner Kochsalzlösung mittels Ultraschallvernebler führt zu vermehrter Flüssigkeitsansammlung in den Bronchien, einerseits durch die Einatmung der Flüssigkeitströpfchen selbst, andererseits durch osmotische Effekte aufgrund ihrer hypertonen Eigenschaften. Zuiker et al. [62] und Beier et al. [63] fanden, dass nach Inhalation hypertoner Kochsalzlösung das exhalierete NO über mehrere Stunden erniedrigt war, ohne dass eine ebenso lang anhaltende Veränderung der Lungenfunktionswerte vorlag. Antczak et al. [64] hingegen fanden bei Gesunden einen verzögerten Anstieg des exhalierten NO 6-24 Stunden nach Sputuminduktion mit hypertoner Kochsalzlösung; dies führten sie auf eine induzierte Entzündungsreaktion zurück. Es ist bekannt, dass die Inhalation von hypertoner Kochsalzlösung eine Neutrophilie, nicht allerdings eine Eosinophilie der Atemwege hervorrufen kann [65]. Letztere würde man eher als eine Neutrophilie mit einem Anstieg des exhalierten NO in Verbindung bringen.

Zur Aerosolerzeugung wurde ein Ultraschallvernebler Typ Omron NE-U 12 mit einer durchschnittlichen Partikelgröße von 7 µm verwendet (Abbildung 4). Über 20 Minuten wurde 3%ige Kochsalzlösung inhaliert. Die Gesamtmenge der vernebelten Flüssigkeit betrug in Stichproben-Messungen 8 bis 17 mL, allerdings muss man davon ausgehen, dass nur ein kleiner Prozentsatz davon in der Lunge deponiert wurde. Die Ausatemluft enthielt noch deutlich sichtbare Aerosole als Hinweis darauf, dass das Größenspektrum der Partikel breit war und nicht alle inhalierten Partikel notwendigerweise deponiert wurden. Wir gingen daher davon aus, dass ein Teil der Partikel bronchial deponiert wird, ein anderer Teil aber peripher oder sogar alveolär und daher in der Lage ist, auch dort eine Störung des Flüssigkeitshaushaltes hervorzurufen.



*Abbildung 4: Ultraschallvernebler mit angeschlossenem Zweiwege-Ventilblock und Mundstück.*

## **2. Inhalation von Sauerstoff**

Die Probanden inhalierten Sauerstoff über eine Nasenbrille (Abbildung 5). Der Sauerstoff-Fluss wurde direkt an der Sauerstoff-Flasche reguliert und auf 5 L/min eingestellt. Die Sauerstoffgabe über eine Sauerstoffbrille wird therapeutisch bei chronischer Hypoxämie angewendet. Die Gabe reinen Sauerstoffs mit einer Flussrate von 2 Litern pro Minute reicht bei Ruheatmung die Einatemluft auf eine effektive mittlere Sauerstoffkonzentration von ca. 28% an, bei einer Flussrate von 5 Litern pro Minute sogar auf 40% [66, 67].

Ein Überangebot an Sauerstoff kann zum respiratorischen Distress-Syndrom führen. Mitverantwortlich ist die Überproduktion von freien Radikalen [68, 69]. Daher wurde darauf geachtet, innerhalb tolerabler Grenzen der Sauerstoffgabe zu bleiben.

Carpagnano et al. [70] berichteten, dass die Inhalation von 28%igem Sauerstoff auch bei Gesunden zu oxidativem Stress und einer Entzündung in den Atemwegen führen kann, die mittels der Konzentrationen von 8-Isoprostan und Interleukin 6 im Atemkondensat messbar war. Diese Daten legten nahe, dass mit der gewählten Stärke des Stimulus messbare Reaktionen möglich sein sollten. Wir entschieden uns jedoch für Wasserstoffperoxid statt 8-Isoprostan, da dies ein direkterer Marker des oxidativen Stress sein sollte. Auch erfolgt die Abgabe von

Wasserstoffperoxid vermutlich gasförmig und ist daher besser definiert als die von 8-Isoprostan, das man eher in exhalieren Partikeln vermuten muss.

Bei oxidativem Stress ist eine das physiologische Ausmaß überschreitende Menge reaktiver Sauerstoffverbindungen (ROS – reactive oxygen species) vorhanden. Zu den ROS gehören zum einen freie Radikale wie das Hyperoxid-Anion ( $O_2^-$ ) und das Hydroxyl-Radikal ( $OH^-$ ), zum anderen stabile molekulare Oxidantien wie Wasserstoffperoxid ( $H_2O_2$ ), Ozon ( $O_3$ ), sowie angeregte Sauerstoffmoleküle (Singulett-Sauerstoff  $^1O_2$ ). Solche reaktiven Verbindungen können durch Inhalation (z.B. von Sauerstoff, Ozon, Feinstäuben oder Zigarettenrauch) in den Organismus gelangen oder endogen vorzugsweise von Entzündungszellen gebildet werden (z.B. nach Aktivierung durch Zytokine wie Tumornekrosefaktor alpha und Interleukin 1) [71].

Als Antioxidantien stehen den Zellen unter anderem Carotinoide, alpha-Tocopherol, Glutathion und Enzyme wie die Superoxiddismutase, Katalase und Peroxidasen zur Verfügung [54].

Besteht ein Ungleichgewicht zwischen Oxidantien und Antioxidantien, so führt dies zur Oxidation von Zellstrukturen wie Nukleinsäuren, Proteinen, Lipoproteinen und Lipiden. Weiterhin schüttet der Organismus antioxidative Enzyme, Zytokine, Adhäsionsmoleküle und Entzündungsmediatoren aus, was wiederum zu Veränderungen der Membranpermeabilität und damit einem Ödem des alveolären Epithels führen kann. Durch das Ödem ist die Transportstrecke zwischen Alveole und Lungengefäßen verlängert, der entsprechende Transferfaktor für Gase nimmt ab.



*Abbildung 5: Verwendete Sauerstoffbrille*

### **3. Untersuchte Parameter**

#### **a) Exhalierendes NO**

Stickstoffmonoxid (NO) wird physiologisch von jedem Menschen abgeatmet. Bekannt ist, dass die Produktion von NO im Bronchial- und Alveolarepithel vor allem bei eosinophilen bzw. allergischen Entzündungen erhöht ist.

Die Bildung von exhalierem NO erfordert die zelluläre Expression der induzierbaren NO-Synthase (iNOS) und dauert je nach Zelltyp etwa zwei bis sechs Stunden [72-74]. Man unterscheidet bronchiales NO ( $\text{NO}_{\text{bro}}$ ) von alveolärem NO ( $\text{NO}_{\text{alv}}$ ).  $\text{NO}_{\text{bro}}$  wird konventionellerweise als fraktionale NO-Konzentration bei einem Fluss von 50mL/s bestimmt und stammt aus den Bronchien; dieser Wert wird auch als „FENO“ bezeichnet und in der pneumologischen Diagnostik verwendet. Das alveoläre NO spielt bei dieser Ausatemrate keine nennenswerte Rolle (Erläuterungen s.u.). Ein erhöhter FENO-Wert gilt als Anzeichen einer Entzündungsreaktion im bronchialen Bereich und als typisch für ein allergisches Asthma, tritt aber auch bei Patienten mit einer alleinigen Rhinitis auf oder während einer Infektion des Atemtraktes, die ebenfalls in der Regel mit einer eosinophilen Reaktion bzw. Aktivierung einhergeht. Der FENO-Wert eines gesunden Erwachsenen liegt je nach Größe und Geschlecht zwischen 10 und 25 ppb, bei großer Streuung zwischen den Individuen, doch guter Reproduzierbarkeit. Die in der Klinik verwendeten Grenzwerte sind derzeit noch nicht international verbindlich festgelegt. Die American Thoracic Society (ATS) sieht bei Werten über 50 ppb beim Asthmatiker eine eosinophile Atemwegsentzündung als wahrscheinlich an [75]. Beim Raucher sind die Werte erniedrigt, vermutlich aufgrund der Reaktion von NO mit Oxidantien und/oder einer Abregulation der iNOS.

$\text{NO}_{\text{alv}}$  entstammt den unteren Atemwegen bzw. Alveolen. Durch Messung des exhalierem NO bei unterschiedlichen Ausatemraten kann zwischen bronchialen und alveolärem NO differenziert werden. Dem liegt die Überlegung zugrunde, dass - relativ zu der als konstant angenommenen Konzentration des alveolären NO - der Beitrag des bronchial erzeugten NO zum ausgeatmeten NO mit zunehmender Ausatemrate immer kleiner wird, weil die Kontaktzeit mit den Bronchien kürzer wird und damit die Konzentration fällt. Durch Extrapolation auf eine unendlich rasche Ausatmung kann man den Wert des alveolären NO errechnen, denn in diesem Fall würde es unverfälscht vom bronchialen NO am Mund gemessen. Somit wächst die aus den Alveolen stammende Menge bei konstanter alveolärer Konzentration proportional zum Ausatemfluss (Menge/Zeit = Konzentration mal Volumenfluss). Hingegen bleibt der bronchiale Beitrag näherungsweise konstant, da die Zunahme des Volumenflusses durch die Abnahme der Konzentration kompensiert wird. Durch Extrapolation auf eine unendlich rasche Ausatmung kann man den Wert des alveolären NO errechnen, denn in diesem Fall würde es unverfälscht vom bronchialen NO am Mund gemessen.

Seine Bestimmung beruht somit auf einem mathematischen Modell und erfordert sehr präzise Messungen, da die Werte im einstelligen ppb-Bereich liegen und somit an der Grenze der Messgenauigkeit konventioneller Gasanalysatoren. Es sei betont, dass das alveoläre NO nur auf diese indirekte Weise erfassbar ist; eine mögliche Fraktionierung der Ausatemluft in einen „frühen“ und einen „späten“ Anteil liefert aufgrund der Besonderheiten des NO keine Information über zentrale oder periphere Beiträge, da alveoläres und bronchiales NO immer gemischt sind. In einer gleichmäßigen tiefen Ausatmung beispielsweise stammen sowohl die „frühen“ als auch die „späten“ Anteile des NO aus den Bronchien. Eine gleichmäßige Ausatmung ist zur Gewährleistung definierter Bedingungen erforderlich, damit überhaupt ein mathematisches Modell angewendet werden kann. Auch muss am Anfang mögliches inhalierem nasales NO erst abgeatmet werden, bevor ein Plateauwert erreicht wird.

Das verwendete Messgerät war ein schnell anzeigender Sievers NO-Analysator (NOA280, Sievers, Boulder, Co, USA), der nach dem Ozon-Chemilumineszenz-Verfahren arbeitet. Hierbei reagiert Ozon mit NO zu angeregtem Stickstoffdioxid ( $\text{NO}_2^*$ ). Dieses gibt Energie in Form von

sichtbarem Licht ab. Ein Photomultiplier verstärkt und misst das Signal, dessen Intensität dem NO-Gehalt der zugeführten Probe entspricht. Das Gerät ist zugleich sehr sensitiv und spezifisch für NO und hat sich in früheren Untersuchungen auch seiner Versatilität wegen sehr bewährt.

Die erforderlichen Ausatemgeschwindigkeiten wurden durch verschiedene Ausatemwiderstände in Kombination mit einer Druckanzeige erreicht. Als Widerstände dienten längs durchbohrte Schrauben mit definierten Öffnungen am Ende des Mundstücks. Der Messablauf war für alle Probanden gleich. Sie atmeten durch den Mund tief ein und danach sofort gleichmäßig in das Messgerät aus. Über eine grafische Anzeige auf einem Computerbildschirm und/oder eine Zahlenanzeige wurden der tatsächliche und der erforderliche Ausatemdruck angezeigt, so dass die Ausatmung vom Probanden gesteuert werden konnte. Der für die definierten Flussraten erforderliche Druck lag bei 12 mbar und erzeugte mit verschiedenen Widerständen verschiedene Flussraten. Die Flussraten wurden empirisch in Versuchen mit einem Glockenspirometer und einer Testperson überprüft, die durch Übung den Ausatemfluss sehr konstant halten konnte. Die für das alveoläre NO verwendeten mittleren Flussraten betrugen 158,1 mL/s und 309,6 mL/s. Die Zahl der Messwiederholungen war mindestens drei. Bei Missglücken eines Manövers wurden noch ein bis zwei weitere Messungen durchgeführt.

Der Wert für  $\text{NO}_{\text{bro}}$  konnte direkt vom Messgerät bei einer Flussrate von 50 mL/s abgelesen werden, unter Verwendung eines separaten Widerstandes.

Um  $\text{NO}_{\text{alv}}$  zu bestimmen, wurde als geeignetes Berechnungsmodell das linearisierte Modell mit zwei Ausatemflüssen eingesetzt [76]. Dieses Modell hatte sich – ungeachtet seiner Einfachheit – in experimentellen und theoretischen Voruntersuchungen (numerischen Simulationen) als am stabilsten erwiesen in dem Sinne, dass es erstens die kleinste Streuung der abgeschätzten alveolären Konzentration und zweitens die geringste Verzerrung dieses Parameters lieferte.

Zur Berechnung wurden die bei jeder Flussrate bestimmten NO-Konzentrationen (in ppb) mit dem jeweiligen Fluss (in mL/s) multipliziert. Dies ergab den NO-Output (ausgeatmete NO-Menge pro Zeit), der gegen die Flussrate aufgetragen wurde. Hierdurch entsteht der Theorie nach bei genügend hohen Ausatemraten idealerweise eine Gerade, deren Steigung den Wert von  $\text{NO}_{\text{alv}}$  direkt in ppb angibt (weitere Ausführungen und Grafik siehe Hauptstudie). Die Gerade entsteht, weil der Beitrag (Menge pro Zeit) des bronchialen NO unter diesen Bedingungen näherungsweise konstant ist (Gradient zwischen Mukosa und Lumen näherungsweise konstant, Konzentration umgekehrt proportional zu Flussrate), hingegen der Beitrag des alveolären NO bei als konstant angenommener alveolärer NO-Konzentration proportional zur Flussrate zunimmt.

## b) Wasserstoffperoxid in der Ausatemluft

Die Luft, die bei jedem Atemzug ausgeatmet wird, enthält Partikel, Wasser und Biomoleküle in der Dampf- und/oder Aerosolphase, die aus der Lunge nach außen transportiert werden und zumindest teilweise die Zusammensetzung der bronchialen und alveolären Flüssigkeit widerspiegeln. Von den zahlreichen Markern und Mediatoren, die im Prinzip aus dem Kondensat bestimmt werden können und wurden, beschränkt sich die vorliegende Arbeit auf Wasserstoff-

Peroxid ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ), das als Marker für oxidativen Stress gilt, wie er bei entzündlichen Atemwegserkrankungen anzunehmen ist. Beispielsweise beschrieben Horvath et al. [77] eine Erhöhung der  $\text{H}_2\text{O}_2$ -Konzentration im Atemkondensat auch bei Asthmatikern. Endogen gebildetes  $\text{H}_2\text{O}_2$  stammt vornehmlich aus neutrophilen und eosinophilen Granulozyten, aus Alveolarmakrophagen sowie Epithel- und Endothelzellen. Eine Übersicht findet sich bei Loukides et al. [71].

Oxidantien wie das Superoxid-Anion, das Hydroxylradikal sowie Wasserstoffperoxid gehören, wie erwähnt, zu den reaktiven Sauerstoffspezies (ROS). ROS können direkt Makromoleküle wie Lipide, Proteine und Nukleinsäuren zerstören oder die Membran von Zellorganellen wie Lysosomen und Mitochondrien destabilisieren. Dies kann zum Zelltod führen [54].

Ein vermehrter Anfall von  $\text{H}_2\text{O}_2$  in der Lunge sollte zu einem Konzentrationsanstieg von  $\text{H}_2\text{O}_2$  im Atemkondensat (EBC) führen. Um dieses Kondensat zu gewinnen, wurde das Gerät „ECoScreen“ (Jaeger, Höchberg) verwendet. Der Proband atmete 15 Minuten lang über einen Krümmer mit Mundstück durch einen Zweiwege-Ventilblock, der In- und Expiration voneinander trennte. Hinter diesem befand sich ein Sammelrohr, das durch ein Kälteaggregat auf maximal ca.  $-30^\circ\text{C}$  gekühlt wurde. In diesem Sammelrohr kondensierte die exhalierte Flüssigkeit und schied sich an der Wand des Gefäßes ab. Nach dem Auftauen konnte das Sammelrohr zentrifugiert werden, um die Kondensatflüssigkeit entnehmen zu können. Da Wasserstoffperoxid auch in der Raumluft in erheblichen Mengen vorhanden ist, wurde am Ventilblock ein spezieller Einatemfilter angebracht, der die  $\text{H}_2\text{O}_2$ -Konzentration in der Einatemluft um ca. 80% senkt [78]. Eine Trennung in einen „frühen“ (präsumptiv bronchialen) und einen „späten“ (präsumptiv alveolären) Anteil der ausgeatmeten Luft erfolgte wie beim exhalieren NO auch hier nicht, da man nach den vorliegenden Beobachtungen davon ausgehen muss, dass  $\text{H}_2\text{O}_2$  ähnlich NO hauptsächlich als Gas aus den Bronchien in die Ausatemluft übertritt; dies äußert sich in einer Flussabhängigkeit der Konzentration. Im Gegensatz zu NO musste aber über die Zyklen der normalen Ausatmung gemittelt werden, da eine vielfach wiederholte Ausatmung bei konstanter Ausatemrate, die für die Gewinnung eines ausreichenden Probenvolumens erforderlich gewesen wäre, nicht praktikabel gewesen wäre. In allen Fällen befanden sich die Probanden in Ruhe, so dass auch eine Ruheatmung anzunehmen war.

Der Probanden durften nicht in das Gerät husten oder niesen, um eine Verunreinigung des Kondensates zu vermeiden. Außerdem wurden sie angewiesen, mindestens alle 5 Minuten vom Mundstück abzusetzen, um im Mund angesammelten Speichel abzuschlucken.

Für das verwendete Analyseverfahren wurden ca. 1,6 mL Atemkondensat benötigt. Die Proben wurden schnellstmöglich weiterverarbeitet.

Die Messung ist bekanntermaßen diffizil, da es sich auf die Dampfphase umgerechnet um Konzentrationen im Sub-ppb-Bereich handelt; daher wurde in Voruntersuchungen viel Zeit auf die Optimierung der Methode verwandt, sowohl im Vergleich zu bereits früher im Labor verwendeten Verfahren als auch im Vergleich zu in der Literatur angegebenen Verfahren. Nunc<sup>TM</sup> 96-Well-Platten (Thermo Fisher Scientific Inc.), zeigten in Probemessungen die besten Eigenschaften bezüglich der Leerwerte der Platte im verwendeten Fluoreszenzmessverfahren, so dass die Streuung der Werte möglichst gering gehalten werden konnte. Der quantitative Nachweis von  $\text{H}_2\text{O}_2$  erfolgte indirekt durch Zugabe eines Enzyms, das einen Farbstoff unter



Verbrauch von  $\text{H}_2\text{O}_2$  umgesetzt. Durch nachfolgende Messung der Wellenlänge der Probe konnte auf den Gehalt von  $\text{H}_2\text{O}_2$  im Exhalat geschlossen werden.

Als Enzym wurden 3  $\mu\text{L}$  Peroxidaselösung (aus Peroxidase grade I from horse radish, Nr. 10108090001, Roche, Mannheim) und als Farbstoff 10  $\mu\text{L}$  92-mmolare p-Hydroxyphenylessigsäure- (pHPA-) Lösung (Nr. 03213PH-089, Aldrich, Steinheim) verwendet. Zugegeben wurden jeweils 150  $\mu\text{L}$   $\text{H}_2\text{O}$  bzw. EBC im Doppelansatz. Für die  $\text{H}_2\text{O}$ -Zugabe wurde Emsure® Wasser zur Analyse (Merck, Darmstadt) verwendet. Die Eigenschaften des Wassers wurden in Vorversuchen überprüft (Ergebnisse siehe Abbildung 6), da sie sich als kritisch für die Werte herausstellten. Für die Anwendung war neben einer möglichst geringen basalen  $\text{H}_2\text{O}_2$ -Konzentration auch entscheidend, dass bei der Entnahme aus dem Gefäß das Wasser nicht verunreinigt wurde. Besonders die Kontamination mit  $\text{H}_2\text{O}_2$  aus der Raumluft galt es zu vermeiden. Als praktikables System erwies sich das in Cubitainer abgefüllte Laborwasser (Abbildung 7), das mittels Zapfhahn aus einem Beutel entnommen wird, der durch einen Karton geschützt ist. Im Beutel herrscht Vakuum, das heißt Raumluft wird bei korrekter Handhabung nicht eingesogen. Merck Emsure® wies zwar eine höhere basale  $\text{H}_2\text{O}_2$ -Konzentration auf als Wasser von AnalR Normapur®, die Abpackung im Vakuum-Cubitainer war jedoch das entscheidende Auswahlkriterium für Merck Emsure®-Wasser. Für AnalR Normapur® ist lediglich ein starrer Cubitainer erhältlich, der zum Druckausgleich Raumluft einsaugt.

Der zusätzliche Doppelansatz von Laborwasser mit den Standards auf jeder Mikrowellplatte ermöglichte eine Überprüfung der Standard-Konzentrationen.

Wasserstoffperoxid wurde in vier Verdünnungen zwischen 4 und 16  $\mu\text{mol}$  im Rahmen einer Standardaddition zugegeben. Anschließend wurde der Inhalt der einzelnen Wells durchmischt. Die Messung der Wellenlänge der Proben erfolgt in einem Fluoreszenzreader der Firma Thermo Scientific (Varioskan Flash, Waltham). Nach Ausgabe der gemessenen Werte wurde der durchschnittliche Leerwert der Wells abgezogen. Danach wurden die Werte in einem Diagramm gegen die zugehörigen Konzentrationen der Standardlösung aufgetragen. Teilte man den Achsenabschnitt durch die Steigung, so erhielt man die absolute Konzentration in  $\mu\text{mol}$ . Teilte man den Wert durch die Probenmenge (150  $\mu\text{L}$ ), so erhielt man den Gehalt an  $\text{H}_2\text{O}_2$  in  $\mu\text{mol}$ .

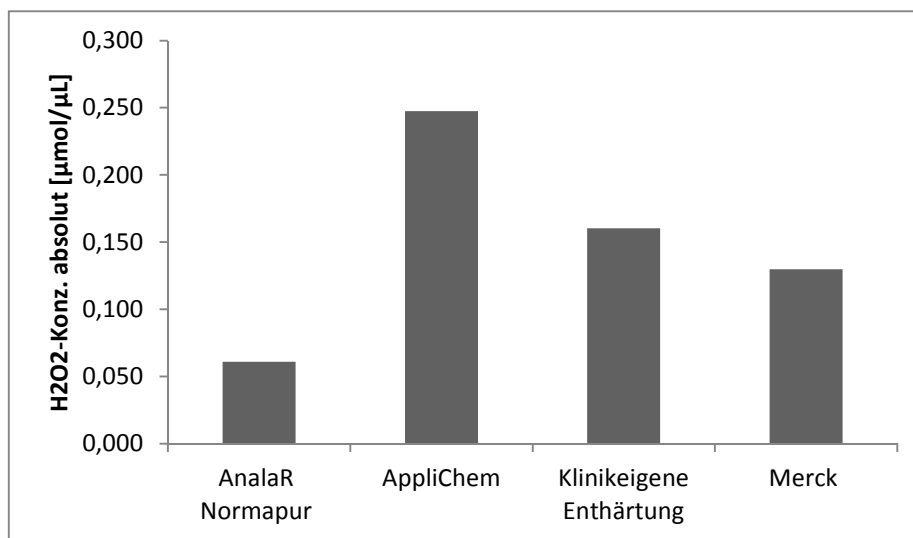


Abbildung 6: Vergleich von Laborwasser-Varianten auf den  $\text{H}_2\text{O}_2$ -Gehalt.

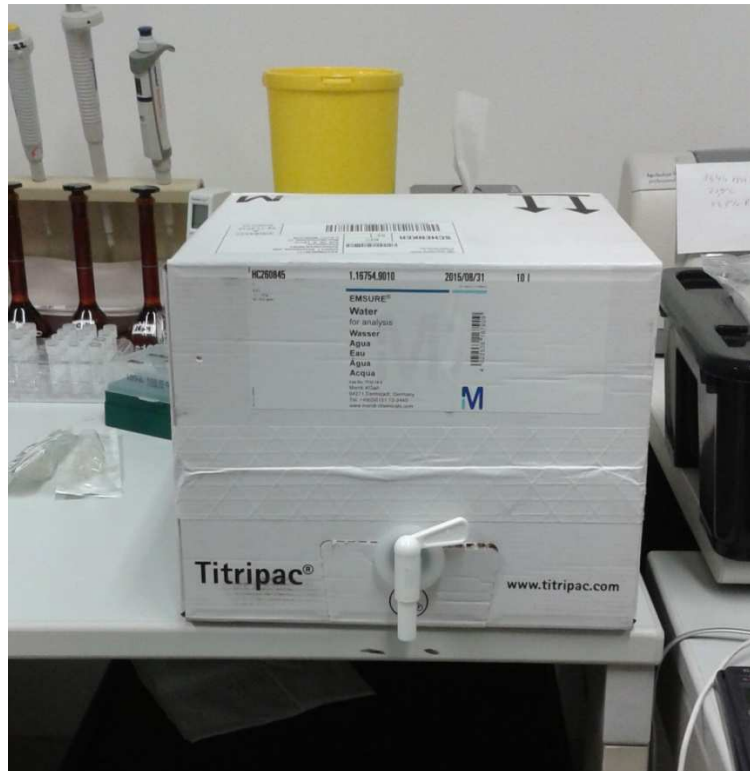


Abbildung 7: Zur Analyse verwendetes Wasser im Cubitainer.

#### a) Kombinierte Diffusionskapazität für NO und CO

Die Aufgabe der Lunge ist der Gasaustausch zwischen Blut und Alveolarluft. Die treibende Kraft für diesen Austausch, der durch Diffusion erfolgt, ist die Partialdruckdifferenz der Gase. Für die Messung der Gasaustauschfähigkeit wird CO bereits seit den 1950er Jahren klinisch verwendet. Ein neueres Verfahren bezieht die Diffusionskapazität für NO mit ein [79]. CO hat eine zweihundertfach höhere Affinität zu Hämoglobin als Sauerstoff. Diese ist für NO noch bis zu vierhundertfach höher als für CO.[80] Für Kohlenmonoxid ist trotz der hohen Affinität in der Regel beim Menschen die Menge an Hämoglobin der hauptsächlich limitierende Faktor. Man erfasst also indirekt primär das kapilläre Blutvolumen der Lunge bei bekanntem Hämoglobingehalt. Dieser kann beispielsweise bei Vasokonstriktion vermindert sein. Hieraus resultiert dann eine Abnahme der Diffusionskapazität für CO (DLCO).

Eine Verlängerung der Diffusionsstrecke, z.B. durch ein Ödem oder fibröse Gewebsumbildung, sowie eine Reduktion der Gasaustauschfläche, z.B. beim Emphysem, führen ebenso zu einer Verminderung der Diffusionskapazität für CO, allerdings ist dieser Effekt klein. Sensitiver ist hier die Diffusionskapazität für NO (DLNO), da aufgrund der enormen Affinität für Hämoglobin die NO-Aufnahme nur geringgradig vom Hämoglobingehalt der Lunge abhängt und NO primär die Gastransporthindernisse erfasst.

Mithilfe der kombinierten Diffusionskapazität für beide Gase kann somit zwischen einer Änderung des pulmonal-kapillären Blutvolumens, also der Perfusion, und einer Veränderung der

Diffusionsstrecke unterschieden werden. Verlängert sich die Strecke zwischen alveolärem Epithel und Kapillare beispielsweise durch ein geringgradiges Ödem, sollte sich die NO-Diffusion im Vergleich zur CO-Diffusion überproportional verringern. Verschlechtert sich hingegen allein die Lungendurchblutung, sollte nur die CO-Diffusion beeinträchtigt sein.

Die relevanten Faktoren für eine Verringerung der Diffusionskapazität sind Abbildung 8 dargestellt.

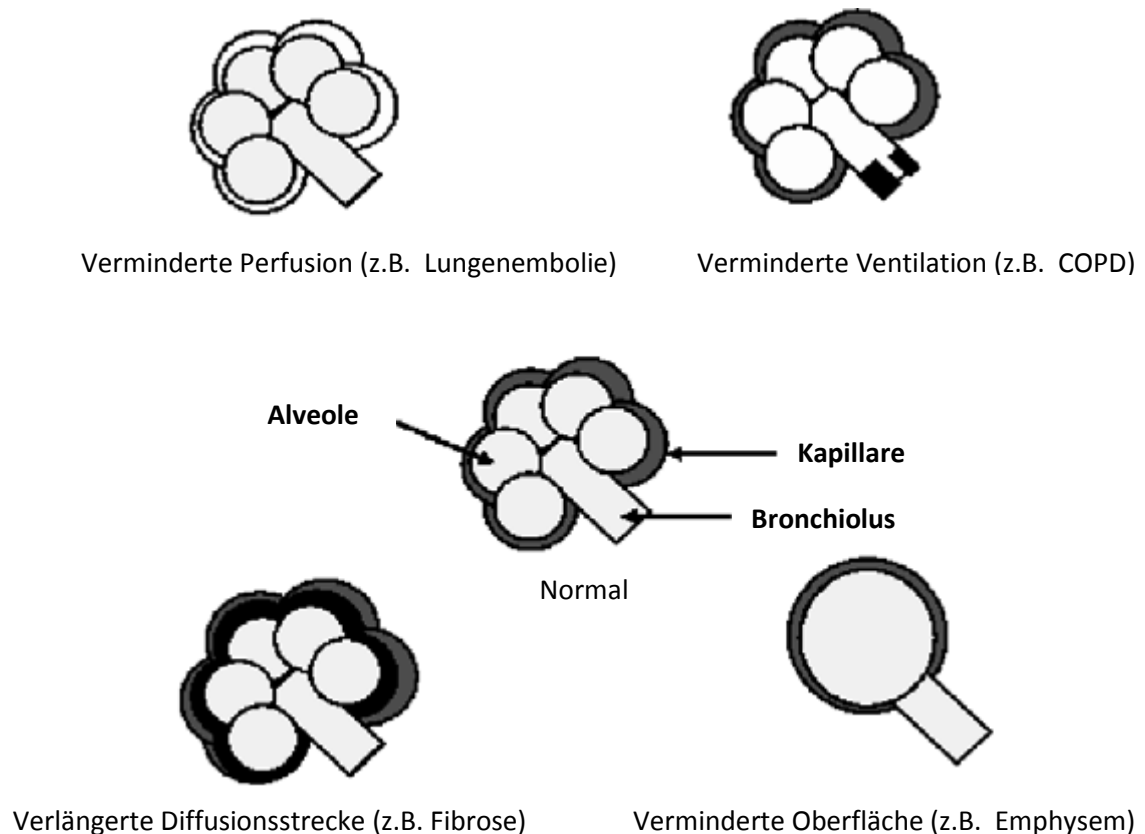


Abbildung 8: Typische Ursachen einer verminderten Diffusionskapazität [80].

Es gibt verschiedene Messprinzipien für die Diffusionskapazität. In der vorliegenden Studie wurden die Werte mittels Einatemzugmethode (single breath) an einem Masterscreen PFT (Viasys, Höchberg) bestimmt. Der Proband atmte hierbei am Mundstück zunächst tief aus und danach zügig maximal ein. Eingeatmet wurde ein Gaskgemisch aus NO, CO, Helium und Sauerstoff (40 ppm; 0,2-0,3%; 7-10%; 21%; Viasys, Höchberg). Die Luft musste 8 Sekunden angehalten werden; danach sollte zügig ausgeatmet werden. Das Gerät berechnete aus der Differenz zwischen ein- und ausgeatmeten Gaskonzentrationen, dem eingeatmeten Volumen und der faktischen Atemanhaltezeit die Werte.[81] Es waren mindestens zwei gültige, qualitativ einwandfreie Manöver gefordert. Diese Bedingung galt als erfüllt, wenn der Proband mindestens 85% seiner bekannten Vitalkapazität (VC) eingeatmet hatte, binnen 4 Sekunden 85% des Volumens eingeatmet waren, die Anhaltezeit zwischen 8 und 10 Sekunden betrug und das Sammelvolumen in weniger als 3 Sekunden ausgeatmet wurde [82]. Bei Abweichung der Diffusionskapazitäts-Werte um mehr als 10% voneinander wurde eine weitere Messung durchgeführt.

Die Messung der Diffusionskapazitäten ergänzt grundsätzlich die Lungenfunktionsuntersuchung um einen wichtigen Parameter, denn der Gasaustausch kann trotz unauffälliger Spirometriewerte verringert sein. Ferner lieferte der Vergleich von NO und CO eine wichtige Information in Hinsicht auf die Fragestellung.

Konventionelle spirometrische Messgrößen wie das forcierte expiratorische Volumen in 1 Sekunde (FEV<sub>1</sub>) und die Vitalkapazität (VC) wurden ebenfalls mittels eines Spirometers erfasst. Details der Lungenfunktionsmessung sind in der Hauptstudie beschrieben.

#### **4. Statistische Auswertung**

Die Auswertung erfolgte mittels des Statistikprogrammes Sigma Plot. Zur Beschreibung wurden Mediane sowie Mittelwerte und Standardabweichungen (SD) verwendet. Die Vergleiche der Vorher- und Nachher-Werte wurden mittels des paarigen Wilcoxon Rangsummentests mit einem Signifikanzniveau von 0,05 durchgeführt. Signifikante Änderungen mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit <0,05 sind mit \* gekennzeichnet. Hochsignifikante Änderungen mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von <0,001 sind mit \*\* markiert.

## IV Ergebnisse

Die anthropometrischen Daten der anamnestisch gesunden Teilnehmer sind in Tabelle 2 zusammengefasst. Aufgrund technischer Probleme waren teils statt 20 nur 19 bzw. 10 valide Messungen verfügbar (siehe Tabelle 3).

*Tabelle 2: Anthropometrische Daten (Mittelwerte und SD).*

Anzahl n (M;W)	20 (11;9)
Alter, Jahre (min;max)	33,2 ± 9,4 (19;50)
Größe, cm	176,1 ± 9,7
Gewicht, kg	72,0 ± 12,9
BMI, kg/m <sup>2</sup>	23,1 ± 2,9

Im Vorher-Nachher-Vergleich der erfassten klinischen Parameter zeigten sich statistisch signifikante Änderungen nicht nach Gabe von Sauerstoff, wohl aber nach Inhalation hypertoner Kochsalzlösung, indem DLNO, DLCO und FEV<sub>1</sub> reduziert waren (jeweils p<0,05). Hierbei fiel die Änderung von DLCO kleiner aus als diejenige von DLNO, wenn auch der Unterschied nicht statistisch signifikant war.

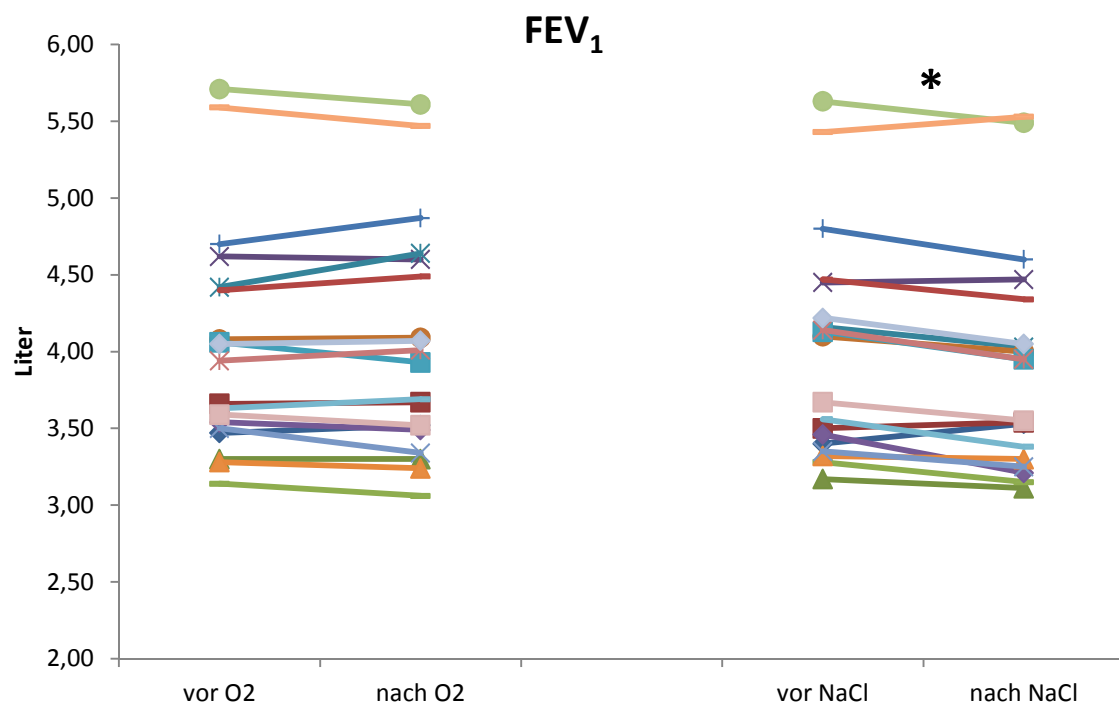


Abbildung 9: Änderung der forcierten Einsekundenkapazität im Vergleich der Visiten.

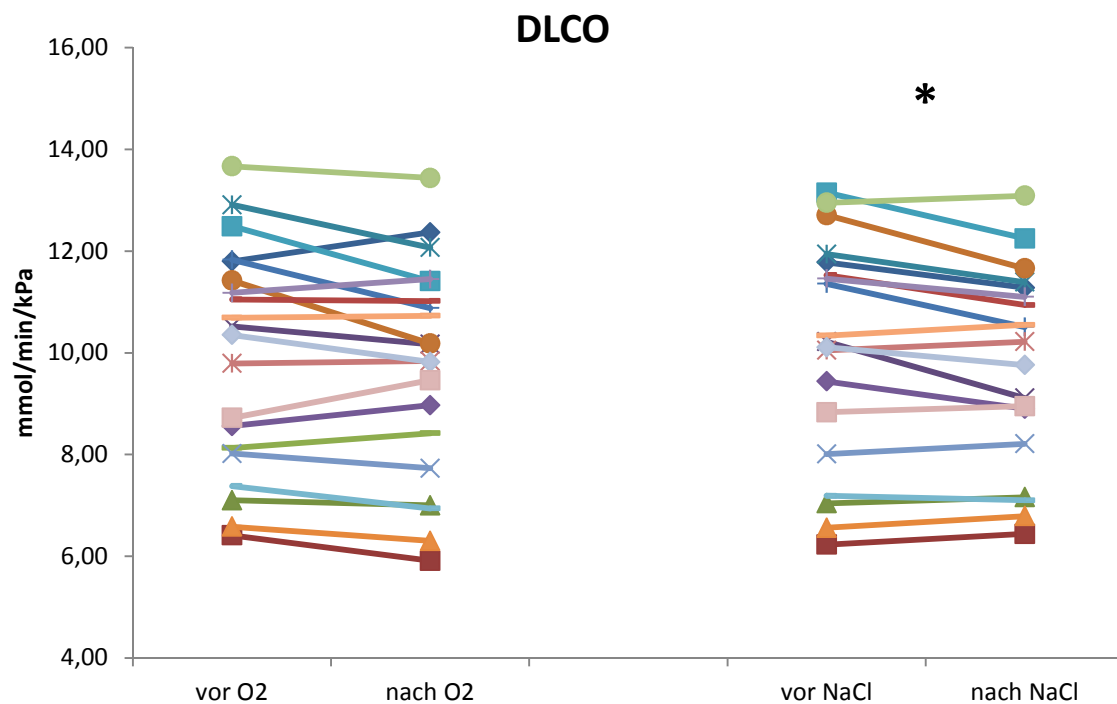
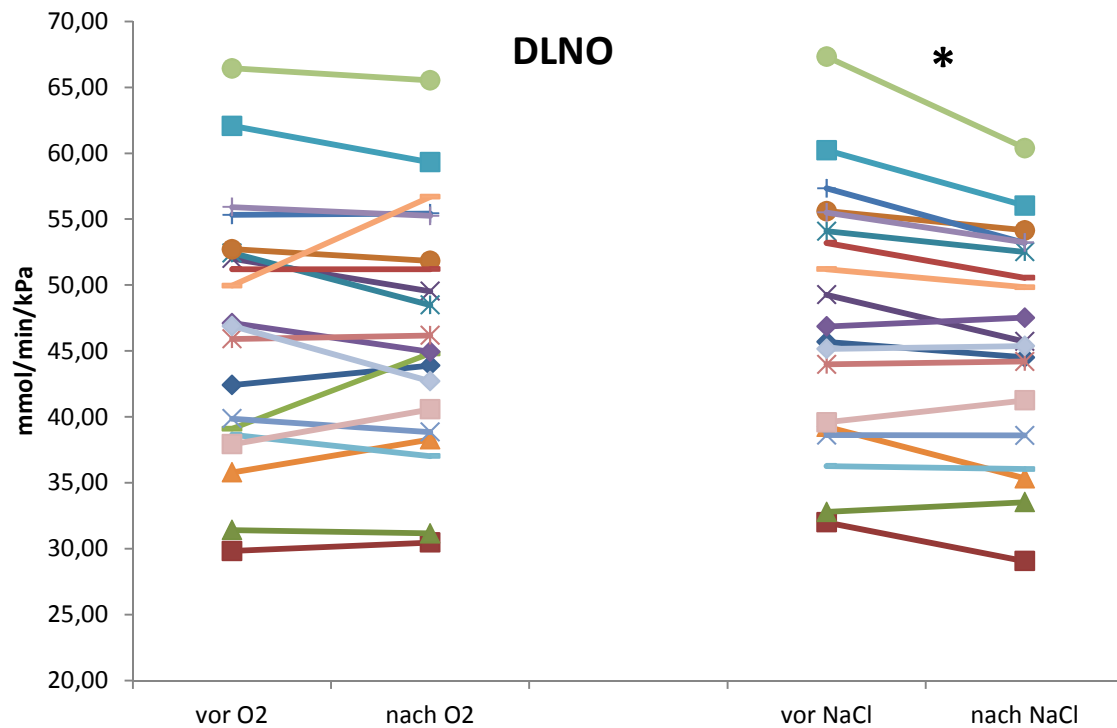


Abbildung 10: Änderung der Diffusionskapazitäten in den beiden Visiten.

Eine Übersicht der Mittelwerte und Standardabweichungen zeigt Tabelle 3. Die mittleren und medianen Änderungen sowie die P-Werte sind in Tabelle 4 zusammengefasst.

Tabelle 3: Übersicht der Ergebnisse der Vorstudie

		NaCl			O <sub>2</sub>	
DLNO (mmol/min/kPa)						
	n	prä	post	n	prä	post
Mittelwert	19	47,58	45,84	20	46,65	46,61
SD		9,43	8,26		9,53	9,00
DLCO (mmol/min/kPa)						
	n	prä	post	n	prä	post
Mittelwert	19	10,05	9,76	20	9,93	9,71
SD		2,15	1,90		2,13	2,05
FEV <sub>1</sub> (L)						
	n	prä	post	n	prä	post
Mittelwert	20	4,01	3,92	19	4,04	4,03
SD		0,70	0,70		0,71	0,72
FeNO (ppb)						
	n	prä	post	n	prä	post
Mittelwert	20	19,12	19,09	20	20,65	19,56
SD		9,27	9,44		10,17	9,34
NO alv (ppb)						
	n	prä	post	n	prä	post
Mittelwert	10	2,58	2,88	13	2,33	2,98
SD		1,98	1,71		1,54	2,45
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (μmol)						
	n	prä	post	n	prä	post
Mittelwert	20	0,56	0,70	19	0,66	0,67
SD		0,30	0,43		0,33	0,36

Grün markiert sind statistisch signifikante Ergebnisse im paarigen Wilcoxon-Rangsummentest.

Tabelle 4: Änderungen und Signifikanz nach Exposition und Signifikanzniveaus (p-Werte im Wilcoxon-Test).

	NaCl			O <sub>2</sub>		
	mittlere Änd.	mediane Änd.	P	mittlere Änd.	mediane Änd.	p
DLNO (mmol/min/kPa)	-3,6%	-2,4%	<b>0,005</b>	-0,1%	-3,1%	0,595
DLNO/VA(mmol/min/kPa/L)	-2,4%	-1,7%	0,096	0,0%	1,5%	0,841
DLCO (mmol/min/kPa)	<b>-2,9%</b>	<b>0,0%</b>	<b>0,04</b>	-2,3%	-4,1%	0,105
DLCO/VA(mmol/min/kPa/L)	-2,0%	-3,3%	0,055	-1,7%	0,0%	0,167
VA (L)	-0,7%	-1,1%	0,074	-0,6%	-0,4%	0,097
FEV <sub>1</sub> (L)	-2,4%	-3,7%	<b>0,002</b>	-0,1%	-0,3%	0,734
FeNO (ppb)	-0,2%	1,0%	0,927	-5,3%	-3,1%	0,165
NO alv (ppb)	11,6%	22,5%	0,322	28,0%	42,2%	0,094
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (μmol)	24,1%	13,9%	0,202	0,6%	14,9%	0,829

Um die Sauerstoffaufnahme zu überprüfen, wurden in einem Selbstversuch während der O<sub>2</sub>-Inhalation einmalig die Blutgase bestimmt. Die Sättigung betrug 100%, der O<sub>2</sub>-Partialdruck 171 mmHg. Fünf Minuten nach Inhalation, d.h. zur Zeit der Messung der Diffusionskapazitäten, lag die Sättigung bei 97%, der O<sub>2</sub>-Partialdruck bei 83 mmHg, mithin wieder im Bereich der Normalwerte.



## V Bedeutung der Ergebnisse

Die Vorstudie lieferte wichtige Erkenntnisse für die Durchführung und Auswertung der Hauptstudie zur Wirkung von Druckeremissionen. Zum einen deuten die Ergebnisse darauf hin, dass bereits eine geringe Flüssigkeitsansammlung in der Lunge eine messbare Verringerung der Diffusionskapazität für NO bewirken kann. Die inhalierte hypertonische Kochsalzlösung sollte zum einen durch die Flüssigkeitszufuhr, zum anderen durch ihre osmotische Wirkung zu einer vermehrten Flüssigphase auf der Oberfläche der Lunge geführt haben. Dies gilt auch für die Lungenperipherie; zwar waren die Partikel bei Erzeugung mit 7 µm Durchmesser im Mittel relativ groß, jedoch enthielt das Aerosol auch kleinere Partikel, die bis in die Alveolen gelangen können oder zumindest bis in die peripheren Atemwege, von denen der Weg in die Alveolen nur kurz ist - vor allem, wenn es sich um Flüssigkeit handelt.

Sollte durch die Inhalation der Nanopartikel aus Druckern die Integrität des alveolären Epithels beeinträchtigt werden, könnte auch hier im Sinne eines geringgradigen, unterhalb der Schwelle klinischer Relevanz bleibenden Ödems Flüssigkeit ins Alveolarlumen austreten und ganz analog die DLNO, nicht oder weniger hingegen die DLCO vermindert sein. Zudem emittieren Laserdrucker auch hydrophobe Nanopartikel wie Siloxane, die „wie Fettaugen auf der Suppe schwimmen“ [83], sich also auf den Flüssigkeitsfilm der Alveolen legen und somit die Diffusionsstrecke verlängern könnten. Die DLNO wäre dann ebenfalls möglicherweise reduziert. Der beobachtete Effekt auf die DLNO war gemäß den vorangegangenen Überlegungen derjenige, der im Vorfeld der Studie als am wahrscheinlichsten und plausibelsten galt. Dass das bronchiale NO sich nicht notwendigerweise verändern musste, erschien nach den widersprüchlichen Literaturdaten als durchaus möglich. Ferner war die im Rahmen des noch problemlos ethisch Vertretbaren gewählte Sauerstoffgabe möglicherweise zu niedrig und/oder kurz, um nachhaltige pro-oxidative Effekte auszulösen, da diese vielleicht eine Erschöpfung der antioxidativen Kapazität erfordern.

Über die Prüfung von Pathomechanismen hinaus konnten in der Vorstudie auch die Messmethoden für die Vorher-Nachher-Messungen optimiert werden, bevor sie in der eigentlichen Druckerstudie zum Einsatz kamen. Für eine genaue Bestimmung von  $\text{NO}_{\text{alv}}$  erwies es sich als notwendig, das Gerät vor jeder Messung mit dem Nullgas zu kalibrieren; die übliche Praxis der gelegentlichen Überprüfung der Eichung reichte offenbar zur Detektion subtilster Änderungen nicht aus. Eine nur geringe Verschiebung des Nullpunktes konnte nämlich bei der Berechnung von  $\text{NO}_{\text{alv}}$  zu unphysikalischen, negativen Werten führen. Die Verwendung eines dritten Ausatemwiderstandes verbesserte darüber hinaus die Genauigkeit der Abschätzung.

Ferner erwies sich in Probemessungen, dass die Aufbereitung des Atemkondensates schnellstmöglich erfolgen musste, da sich die  $\text{H}_2\text{O}_2$ -Konzentrationen in den Proben durch Lagerung veränderten. Ein Vorher-Nachher-Vergleich erforderte eine hochpräzise Bestimmung, da die erwarteten Änderungen gering waren. Darüber hinaus fanden wir, dass ein zwischenzeitliches kurzes Absetzen vom Mundstück hilfreich war, um im Mund angesammelten Speichel zu schlucken, so dass dieser auf keinen Fall in das Sammelrohr gelangen konnte. Auch mussten erst Mikrowellplatten und Laborwasser mit einem geringen Leerwert identifiziert werden, um eine bestmögliche Analyse zu gewährleisten; vor allem die Daten zum Wasser waren eine Warnung

vor jedem naiven Vertrauen in firmenseitige Angaben analytischer Reinheit. Auch wenn alle Messmethoden bereits vor Beginn der Studie verfügbar waren und sogar ausgiebige Erfahrung damit vorlag, zeigten sich doch beim Einarbeiten die weiteren beschriebenen Verbesserungsmöglichkeiten, die dann auch Eingang in die Druckerstudie fanden.

# C Hauptstudie

## I Allgemein

Betriebsärzte sowie Arbeits- und Umweltmediziner erhalten immer wieder Anfragen bezüglich eines eventuellen Zusammenhangs zwischen der Benutzung von laserbasierten Bürogeräten und dem Auftreten gesundheitlicher Beschwerden. Die Hauptstudie hatte zum Ziel, die Auswirkungen von Laserdruckeremissionen unter realitätsnahen Bedingungen, wie sie in Büros anzutreffen sind, zu untersuchen. Die Herausforderung bestand in der Gestaltung eines geeigneten Szenarios, das eine gute Standardisierung ermöglichte und zeitlich realistisch war. Zudem mussten andere Emissionsquellen, wie beispielsweise Teppiche und Reinigungsmittel sowie die Kontamination der Raumluft mit Pollen, Verkehrs- und Rauchabgasen ausgeschlossen werden. Im Gegensatz zu einer vorangegangenen Pilot-Studie, in der bereits 22 gesunde Probanden nach einem einfacheren, aber ähnlichen Protokoll untersucht worden waren [84], befasste sich die vorliegende Studie auch mit Asthma-Patienten und Personen, die Beschwerden im Zusammenhang mit Druckeremissionen angaben. Ob diesen Beschwerden messbare klinische oder pathophysiologische Veränderungen zugrunde liegen und ob es prädisponierende Faktoren gibt, ist bisher nicht ausreichend geprüft. Die Beantwortung dieser Fragen könnte neue Ansätze für die arbeitsmedizinische Untersuchung betroffener Personen sowie die Prävention liefern.

Generell sind zwei Kurzzeit-Wirkungen der Laserdruckeremissionen denkbar. Zum einen ist es möglich, dass es zu einer physischen Reaktion inklusive einer Veränderung der Lungenfunktion kommt, vor allem durch Nanopartikel. Zum anderen könnte der Betrieb der Geräte durch Effekte der Nanopartikel sowie Geruch und Geräusche zu einer Einschränkung des Wohlbefindens führen. Dies kann sich negativ auf Leistungsfähigkeit und Psyche auswirken.

Das Hauptaugenmerk lag auf der Belastung mit nanopartikulären Stäuben. Dazu absolvierten die Probanden zwei Expositionen mit unterschiedlichen Laserdruckern. In einer Visite waren nur Geräte in Betrieb, die keine messbaren Mengen an Nanopartikeln emittieren. Es handelte sich praktisch um eine Nullexposition mit identischen optischen und akustischen Eindrücken. In der anderen Visite wurden Geräte mit hoher Nanopartikelemission eingesetzt. Die Visiten waren randomisiert und einfach, d. h. gegenüber den Probanden verblindet. Die inhalative Belastung durch von Laserdruckern emittierte Nanopartikel war für die Probanden während der 75 Minuten dauernden Exposition verglichen mit den realen Verhältnissen einer akuten Exposition relativ hoch, da keine zusätzliche Belüftung des Raumes erfolgte. Die Gesamt-Staubbelastung war jedoch im Vergleich zu normalen Innenräumen gering. Es wurden sehr stark emittierende Geräte gewählt, um ein worst case-Szenario zu simulieren.

Das Studienprotokoll wurde der Ethikkommission der LMU zur Prüfung vorgelegt und am 28.04.2011 als unbedenklich genehmigt.

Die Untersuchung der Probanden fand zwischen März 2012 und Mai 2013 statt.



## II Probandengruppen und Rekrutierung

Die Probanden wurden auf mehreren Wegen rekrutiert:

- Patienten der Ambulanz des Instituts für Arbeits-, Sozial- und Umweltmedizin
- Bekanntenkreis der Studienbeteiligten (ohne Vorinformation bzgl. der Studie)
- Aushänge und Einträge im Intranet des Klinikums der LMU
- Anschreiben an pneumologische Fachpraxen in München
- Anschreiben an umweltmedizinische Ambulanzen
- Anschreiben an den betriebsärztlichen Dienst der Landeshauptstadt München
- Ein Zeitungsartikel im „Münchner Merkur“ am 14.08.2012 [85]

Es wurden Personen im Alter zwischen 18 und 60 Jahren eingeschlossen, da für die arbeitsmedizinische Fragestellung berufstätige Personen untersucht werden sollten. Die Probanden mussten Nichtraucher sein und einen guten allgemeinen Gesundheitszustand aufweisen. Insbesondere schwere Stoffwechselerkrankungen wie Diabetes und schwere Herzerkrankungen wie ein vorangegangener Herzinfarkt waren Ausschlusskriterien. Eine Kortikosteroidmedikation (oral, inhalativ oder Hautcremes) musste mindestens 21 Tage zurückliegen. Ein Studienabbruch durch die Teilnehmer war jederzeit ohne Angabe von Gründen möglich.

Das Probandenkollektiv gliederte sich gemäß Fragestellung in drei Hauptgruppen. Zusätzlich wurde eine Einteilung aller Probanden gemäß Hyperreagibilität „quer“ zu den genannten drei Gruppen eingeführt; diese Einteilung galt auch für die Gruppe der Gesunden. Somit ergaben sich zwei alternative Gruppen Hyperreagibilität und insgesamt 5 sich teils überlappende Gruppen, die in Subgruppenanalysen berücksichtigt wurden.

- Gesunde
  - Asthma-Patienten
  - Personen, die anamnestisch Beschwerden im Umgang mit Laserdruckern oder -kopierern angaben (Betroffene).
- bzw.
- Personen ohne bronchiale Hyperreagibilität (BHR)
  - Personen mit bronchialer Hyperreagibilität (BHR)

Diese Gruppen werden im Folgenden genauer beschrieben.

### 1. Gesunde mit normoreagiblem Bronchialsystem

Für die Aufnahme in die Gruppe „Gesunde mit normoreagiblem (nicht hyperreagiblem) Bronchialsystem“, im Folgenden ggf. kurz „Gesunde“ genannt, waren neben den oben geschilderten Kriterien folgende speziellen Ein- und Ausschlusskriterien erforderlich:

- allgemein guter Gesundheitszustand
- keine Allergiesymptome im Studienzeitraum
- kein Asthma oder andere Lungenerkrankung
- anamnestisch keine Beschwerden durch LDS
- negatives Ergebnis in der bronchialen Provokation mit Methacholin (MCH)

## **2. Gesunde mit hyperreagiblem Bronchialsystem**

Personen mit bronchialer Überempfindlichkeit (Hyperreagibilität, Hyperreaktivität, BHR) unterschieden sich von den „Gesunden“ nur darin, dass sie eine positive bronchiale Provokation mit Methacholin aufwiesen, bei Fehlen jeglicher Atemwegsbeschwerden. Eine derartige positive Reaktion kommt auch in Abwesenheit einer manifesten respiratorischen Erkrankung in der Bevölkerung nicht selten vor. Man nimmt an, dass sie zu pulmonalen Reaktionen auf Noxen disponieren kann.

## **3. Asthma-Patienten**

In diese Gruppe wurden Personen mit folgenden Charakteristika aufgenommen:

- aktuelle ärztliche Diagnose eines allergischen oder belastungsinduzierten Asthma
- Untersuchung nur in der jeweils symptomfreien Jahreszeit
- keine Einnahme von Bronchodilatoren binnen 12 Stunden vor den Terminen

Eine bronchiale Hyperreagibilität war nicht zwingend gefordert, obgleich sie normalerweise bei Asthma vorliegt. Entsprechend dem Ergebnis der Provokation wurden die Probanden den beiden alternativen Gruppen der Hyperreagiblen oder nicht Hyperreagiblen zugeordnet.

## **4. Betroffene**

Personen, die anamnestisch Beschwerden nach Umgang mit Laserdruckern und –kopiergeräten angaben, wurden in die Gruppe „Betroffene“ eingegliedert. Die geschilderten Symptome konnten spezifisch sein, z.B. Atemnot, Husten, Augenreizung, oder unspezifisch, z.B. Müdigkeit und Konzentrationsschwäche. Eine bronchiale Hyperreagibilität war nicht zwingend gefordert. Entsprechend dem Ergebnis der Methacholin-Provokation wurden die Probanden dieser Gruppe den alternativ ausgewerteten Gruppen der Hyperreagiblen und nicht Hyperreagiblen zugeordnet.

Die Ein- und Ausschlusskriterien der Gruppen sind in *Tabelle 5* zusammengefasst.

Ergebnis dieser Gruppeneinteilungen war, dass bei der Analyse der Daten zum einen alle Probanden zusammen, sodann die drei Hauptgruppen der Gesunden, Asthmatiker und Betroffenen unabhängig vom Bestehen einer Hyperreagibilität ausgewertet wurden, sodann die

beiden Gruppen der Hyperreagiblen und der nicht Hyperreagiblen unabhängig von der Zugehörigkeit zu den genannten drei Hauptgruppen. Angesichts der Kleinheit der Effekte und der mit multiplen Tests verbundenen Probleme schien es in der Auswertung nicht sinnvoll, die Gruppe der Gesunden oder die anderen beiden Gruppen für sich genommen noch einmal nach der Hyperreagibilität aufzuspalten.

*Tabelle 5: Ein- und Ausschlusskriterien*

	Normoreagible Gesunde	Hyperreagible Gesunde	Asthma- Patienten	Betroffene
Allgemein	Alter zwischen 18 und 60 Jahren, guter Gesundheitszustand, keine Kortikosteroidmedikation, Nichtraucher			
Bronchiale Hyperreagibilität	-	+	*(a)	~
Asthma	-	-	+	~
Beschwerden nach Umgang mit Laserdruckern/- kopierern	-	-	-	+

*a: Das Fehlen bronchialer Hyperreagibilität bei Vorhandensein asthmatischer Beschwerden ist möglich ([86, 87]) und trat bei 2 Probanden auf; ~: in der Gruppe der Betroffenen gab es keine Einschränkung bezüglich Asthma/bronchialer Hyperreagibilität.*





### III Studiendesign

#### 1. Untersuchte Parameter

In arbeits- und umweltmedizinischen Ambulanzen kann eine Abklärung druckerassoziierter Beschwerden meist nicht in vollem Umfang erfolgen. Bei Atemwegsbeschwerden ist es möglich, die Lungenfunktion zu überprüfen, sowie eine unspezifische bronchiale Provokation und ein Allergiescreening durchzuführen. Eine Rhinomanometrie und gegebenenfalls unspezifische nasale Provokation können Hinweise auf ein Anschwellen der Nasenschleimhäute nach unspezifischen Stimuli geben.

Es ist jedoch gut vorstellbar, dass diese diagnostischen Möglichkeiten nicht sensitiv genug sind, um mögliche Effekte zu objektivieren. Eine kurzfristige Exposition gegenüber Laserdruckeremissionen könnte zu subtilen Änderungen führen, die nur mit aufwändigen Mess- und Labormethoden zu detektieren sind. Zurzeit gibt es kein nanospezifisches arbeits- medizinisches Screening. Die Studie hatte zum Ziel, mittels praktikabler Methoden von maximaler Sensitivität mögliche Reaktionen exponierter Personen aufzuspüren. Entsprechend kamen ein breites Spektrum an klinischen und psychologischen Untersuchungen und vor allem avancierte Messverfahren unter größtmöglicher Standardisierung zum Einsatz. Hierbei flossen auch die Erfahrungen der Vorstudie sowie weiterer vorangegangener Untersuchungen vorteilhaft ein.

## 1.1 Klinische Parameter

### a) Exhalierendes CO

Mittels exhalierendes Kohlenstoffmonoxids (COe) wurde in jeder Visite sowohl der Nichtraucherstatus des Probanden überprüft als auch der Korrekturwert für die CO-Diffusionskapazität bestimmt. Der Proband atmete durch den Mund maximal tief ein und hielt den Atem für 10 Sekunden an. Danach atmete er gleichmäßig in das Messgerät aus (BreathCO, Vitalograph, North Buckinghamshire, Abbildung 11). Der Wert des exhalierendes CO wurde in parts per million (ppm) angegeben und sollte beim Nichtraucher unter 4 ppm liegen.



Abbildung 11: Verwendetes Messgerät für das exhalierendes CO.

### b) Exhalierendes NO

Dieses Verfahren wurde bereits in der Vorstudie in Hinsicht auf den zugrundeliegenden Messansatz beschrieben. Die Vorstudie hatte ergeben, dass zur Verbesserung der Messgenauigkeit des alveolären NO ein zusätzlicher Widerstand eingesetzt werden sollte. Gerade bei Frauen mit kleinem Lungenvolumen erwies es sich als schwierig, beim höchsten Fluss noch ein hinreichend langes NO-Plateau bei konstanter Ausatemrate zu erreichen. Daher wurde ein weiterer, mittlerer Widerstand hinzugefügt. Die für die Hauptstudie verwendeten Flussraten betrugen somit 158,1 mL/s, 238,3 mL/s und 309,6 mL/s.

Das alveoläre NO wurde für das gewählte Expositionsszenario als aussichtsreicherer Untersuchungsparameter als das bronchiale NO ( $\text{NO}_{\text{bro}}$ ) angesehen. Nanopartikuläre Substanzen dringen tief in die Lunge vor und könnten dort u. A. eine Entzündungsreaktion hervorrufen, die mittels  $\text{NO}_{\text{bro}}$  vermutlich nicht erfasst wird. Zwei Möglichkeiten sind denkbar. Entweder wird die lokale NO-Abgabe in den Alveolen durch pro-oxidative Prozesse verändert, und/oder es wird durch ein geringgradiges Ödem oder einen Flüssigkeitsfilm der Übertritt von NO aus dem Blut in die Ausatemluft erschwert. In beiden Fällen würde man einen Abfall des  $\text{NO}_{\text{alv}}$  erwarten.

Die Analyse erfolgte analog der Vorstudie. Zur Berechnung wurden die bei jeder Flussrate bestimmten NO-Konzentrationen (in ppb) mit dem jeweiligen Fluss (in mL/s) multipliziert. Dies ergab den NO-Output (ausgeatmete NO-Menge pro Zeit), der gegen die Flussrate aufgetragen wurde. Hierdurch entsteht im Idealfall eine Gerade, deren Steigung direkt den Wert von  $\text{NO}_{\text{alv}}$  in ppb ergibt (siehe Abbildung 12).

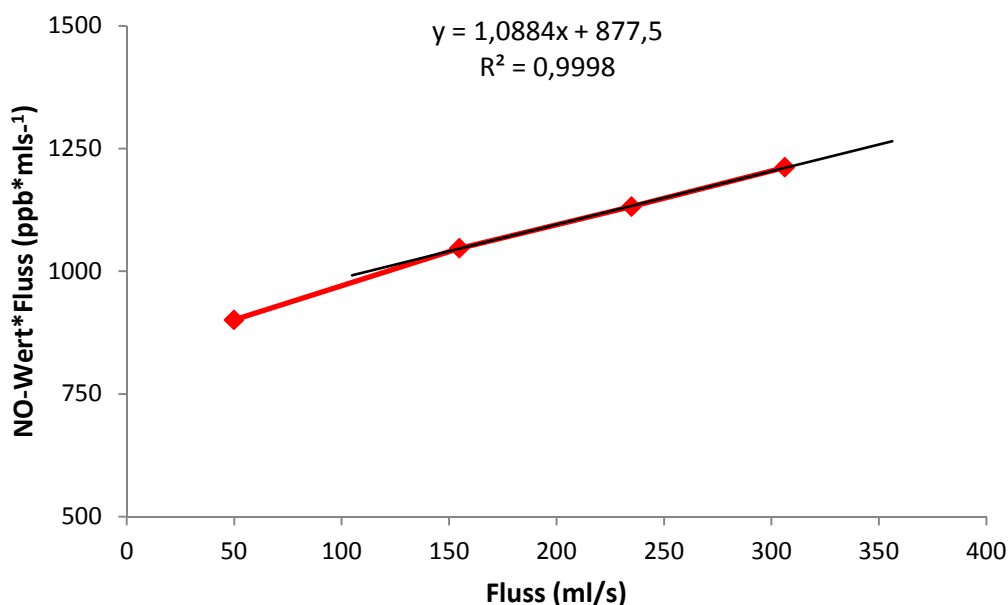


Abbildung 12: Berechnung des alveolären NO nach dem linearisierten Modell.[76] Die Steigung der Geraden entspricht  $\text{NO}_{\text{alv}}$  in ppb. Der Wert für  $\text{NO}_{\text{bro}}$  bei 50mL/s wird nicht mit einbezogen, da der den für die Berechnung geforderten Modellannahmen nicht genügt.

Wegen eines Gerätedefektes musste das ursprüngliche Analysegerät kurz nach Studienbeginn durch ein bereits bewährtes Ersatzgerät gleichen Typs ersetzt werden. Aufgrund der strikten Kalibrierkontrollen gehen wir jedoch davon aus, dass - von einem technisch bedingten teilweisen Datenverlust abgesehen - die Messwerte vergleichbar waren. Die  $\text{NO}_{\text{bro}}$ -Werte der beiden Kontrollpersonen, die mit beiden Geräten regelmäßig bestimmt wurden, waren nicht systematisch verschieden.

### c) Kombinierte Diffusionskapazität für NO und CO

Auch diese Messung bzw. die Analyse der Werte wurde nach den Erkenntnissen aus der Vorstudie verbessert. Wenn der Proband CO einatmet, diffundiert dieses ins Blut und bindet an Hämoglobin. Das Carboxyhämoglobin steht nicht mehr für die CO-Diffusion zur Verfügung. Folglich sind die Werte für DLCO bei nachfolgenden Manövern erniedrigt, wodurch im Vorher-Nachher-Vergleich der Exposition artifizielle Effekte gemessen werden. Mohsenifar et al. [88] haben gezeigt, dass die DLCO bei Personen mit erhöhten Carboxyhämoglobin-Werten erniedrigt ist. In Untersuchungen von Zavorsky [89] stieg der COHb-Wert nach 5s Atemanhaltezeit um 0,44% an, nach 10s Atemanhaltezeit um 0,64%. Dadurch verringerte sich die DLCO um 0,35 bzw. 0,44 mL/min/mmHg. Dies sind geringe Änderungen, die aber doch bei Präzisionsmessungen berücksichtigt werden müssen. DLNO blieb selbst nach 22 aufeinander folgenden Manövern unverändert, was ihre weitgehende Unabhängigkeit vom verfügbaren Hämoglobingehalt bestätigt.

Um zwecks optimaler Auswertung den Effekt der Messwiederholung rechnerisch zu korrigieren, wurde folgende Korrekturformel nach Graham et al. [90] verwendet:

$$DLCO_{\text{koriigiert}} = DLCO \times \frac{Hb_{\text{Standard}}}{Hb_{\text{gemessen}} \times \left(1 - \frac{FA_{CO}[\text{ppm}]}{560}\right)}$$

Sie bezieht sowohl das exhalierete CO als auch das gesamte Hämoglobin mit ein. Das exhalierete CO korreliert sehr gut mit dem CO-Gehalt im Blut [91] und ist nichtinvasiv und ohne Blutgasanalysegerät bestimmbar (siehe S.52). Eine EDTA-Blutprobe wurde am selben Tag im Labor des Klinikums auf den Hämoglobin-Gehalt hin untersucht. Der so erhaltene Wert wurde in die Korrekturformel für DLCO eingesetzt.

### d) Spirometrie und Bodyplethysmographie

Die Spirometrie ist ein klassisches Verfahren zur Beurteilung der Lungenfunktion. Mittels dieses Verfahrens lassen sich verschiedene Lungenvolumina und deren dynamische Veränderung bestimmen. Zu den wichtigsten Messgrößen gehören die Forcierte Einsekundenkapazität (FEV<sub>1</sub>), und die Forcierte Vitalkapazität (FVC) sowie deren Quotient, der Tiffenau-Index (FEV<sub>1</sub>/FVC). Mittels Spirometrie können Ventilationsstörungen wie eine Obstruktion (Verengung der Atemwege) oder (in Grenzen) eine Restriktion (verminderte Ausdehnungsfähigkeit bzw. vermindertes Volumen der Lunge) nachgewiesen werden.

Ein Nachteil der Spirometrie besteht darin, dass ein forciertes Ausatemmanöver nötig ist. Das Ergebnis ist folglich stark mitarbeitersabhängig. Die Bodyplethysmographie erweitert die

lungenfunktionsdiagnostischen Möglichkeiten, da sie weniger mitarbeitsabhängig ist und hiermit auch Volumina bestimmbar sind, die nicht mittels Spirometrie allein gemessen werden können: das intrathorakale Gasvolumen (ITGV) bzw. die funktionelle Residualkapazität am Ende der normalen Ausatmung, das Residualvolumen (RV) und die Totale Lungenkapazität (TLC). Ferner wird der Atemwegswiderstand, also der Grad der Obstruktion, im Bodyplethysmographen während Ruheatmung bestimmt.

Unter den Atemwegswiderständen werden der spezifische Atemwegswiderstand  $sR_{\text{tot}}$  und der eigentliche Atemwegswiderstand  $R_{\text{tot}}$  unterschieden. Das Suffix „tot“ bezieht sich auf eine spezielle, in dieser Studie gewählte Auswertemethode der Atemschleifen.  $sR_{\text{tot}}$  wird an der Atemschleife abgelesen, welche die Auftragung von Atemfluss gegen Kabinendruck bzw. Verschiebevolumen darstellt (siehe Abbildung 13). Je flacher die Atemschleife ist, desto mehr Verschiebevolumen muss die Person aufbringen, um den treibenden alveolären Druck aufzubringen und so den Atemstrom zu erzeugen, und desto höher ist die bei der Atmung gegen den Strömungswiderstand der Atemwege zu leistende Volumenarbeit. Der eigentliche Atemwegswiderstand im engeren Sinne  $R_{\text{tot}}$  ist der eigentliche, auf den errechneten alveolären Druck bezogene Widerstand und ebenso ein Maß für die Atemwegsobstruktion. Er hängt vom Ergebnis der Verschlussdruckmessung (Shutter-Manöver) ab.  $R_{\text{tot}}$  berechnet sich als Quotient aus  $sR_{\text{tot}}$  und ITGV. Da der Strömungswiderstand der Lunge von ihrem Volumen abhängt, ist es sinnvoll, sowohl  $R_{\text{tot}}$  als auch den idealerweise vom Volumen unabhängigen, eher eine Arbeit als einen Widerstand darstellenden  $sR_{\text{tot}}$  zu bestimmen.

Das ITGV wird in der Verschlussdruckmessung bestimmt. Dies erfolgt nach folgendem Prinzip: gemäß dem Gesetz von Boyle-Mariotte verhalten sich Druck und Volumen reziprok zueinander. Um das Lungenvolumen um den gleichen Betrag zu verändern, ist bei einer großen Lunge ein geringerer Alveolardruck erforderlich als bei einer kleinen Lunge. Ist der Atemstrom gleich null (durch den Schluss des Shutters), entspricht idealerweise der Alveolardruck dem Munddruck. Letzterer ist im Bodyplethysmographen neben dem Kabinendruck messbar. Aus der Volumenänderung der Lunge, die sich als Volumenänderung der Kabine aus der Änderung des Kabinendrucks bei bekanntem Kabinenvolumen ergibt, sowie der Änderung des Munddrucks kann das Lungenvolumen zum Zeitpunkt des Verschlusses abgeleitet werden.

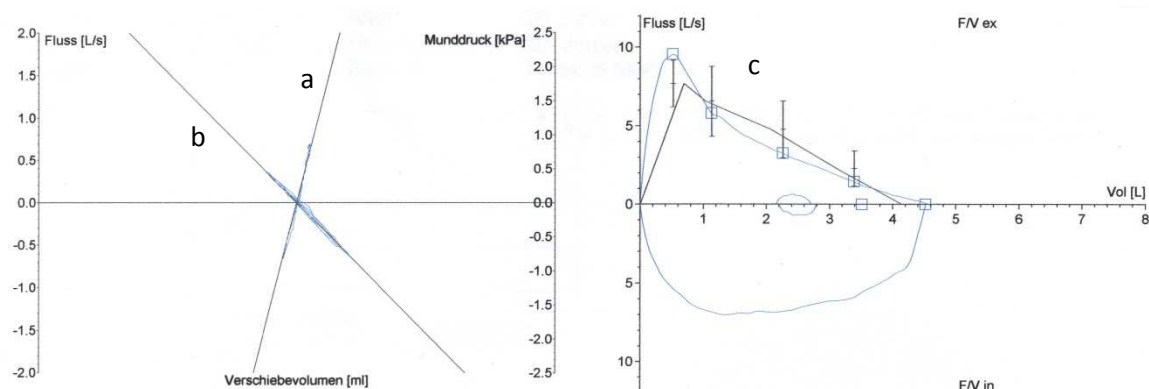


Abbildung 13: Darstellung der Atemschleife (a), des Shutter-Manövers (b) und des forcierten Manövers (c) im Bodyplethysmographen.

Das in dieser Studie verwendete Szenario einer Nanopartikel-Exposition sieht die Lunge als Hauptaufnahmeorgan vor. Da die Nanopartikel tief in das Lungengewebe eindringen, ist es denkbar, dass nur die unteren Atemwege von der Partikelinhalation beeinflusst werden. So könnte es neben einem alveolären Ödem zu einer Obstruktion in den Bronchiolen und damit Vergrößerung des retinierten Gasvolumens kommen; hierfür wären die Atemwegswiderstände bei Personen mit normaler Lungenfunktion vermutlich wenig sensitiv. Interessante Messgrößen sind deshalb auch das intrathorakale Gasvolumen (ITGV), d.h. das Volumen am Ende einer normalen Ausatmung, sowie das Residualvolumen (RV). Die Bestimmung der Atemwegswiderstände, die im Bodyplethysmographen nicht wesentlich mitarbeitsabhängig ist, liefert somit direkt und indirekt Informationen über den Obstruktionszustand der gesamten Atemwege.

Der verwendete Bodyplethysmograph war ein bereits zuvor erprobtes Gerät der Fa. Jäger (Bodyscreen). Der Proband atmete in einer geschlossenen volumenkonstanten Plexiglaskabine durch ein Mundstück und wurde per Mikrophon zu den Atemmanövern angeleitet. Die Nase war mittels Nasenklemme verschlossen. An die Aufzeichnung der Atemschleifen zur Bestimmung des spezifischen Atemwegswiderstandes  $sR_{tot}$  und die Verschlussdruckmessung für Bestimmung von ITGV und die Berechnung von  $R_{tot}$  schloss sich eine Spirometrie an. Drei qualitativ gute Spirometrie-Manöver waren zu absolvieren. Bei der Beurteilung der Manöver wurden die Richtlinien der American Thoracic Society (ATS) befolgt [92].

#### e) Bronchiale Provokation mit Methacholin

Zur Feststellung einer unspezifischen bronchialen Hyperreagibilität, auch bei Teilnehmern mit selbstberichteten Beschwerden, sowie zum Zweck der Einordnung der Probanden in die Übergruppen „nicht hyperreagibel“ und „hyperreagibel“ erfolgte ein Methacholin-Provokationstest. Der Test erfolgte, um im Rahmen der Fragestellung Hinweise zu erhalten, ob Personen, die generell überempfindlich auf unspezifische Atemwegsreize reagieren, nach Exposition gegenüber Laserdruckeremissionen vermehrt Beschwerden angaben oder bei den untersuchten Parametern abweichend reagierten.

Dieser fand an einem separaten Untersuchungstag vor dem Voruntersuchungstag statt, an dem die Probanden in die Messabläufe eingewiesen wurden. Etwa 19-25% [93] der deutschen Bevölkerung weisen ein überempfindliches Bronchialsystem auf, indem sie nicht auf spezifische Allergene, sondern vor allem auf unspezifische Reize wie etwa kalte oder trockene Luft mit einer Bronchokonstriktion reagiert. Die individuelle Feststellung einer Überempfindlichkeit erfolgt allerdings mittels des Provokationstests unabhängig von der Anamnese. Der Methacholintest simuliert auf pharmakologische Weise die Einwirkung eines unspezifischen Reizes auf das Bronchialsystem. Methacholin (MCH) ist ein synthetischer Cholinester, der als nichtselektiver Cholinrezeptoragonist wirkt und für den Test auf bronchiale Hyperreagibilität hervorragend geeignet ist [94-96].

Die Substanz wird routinemäßig in der Diagnostik von Atemwegsbeschwerden eingesetzt. Bei Vorhandensein eines hyperreagiblen Bronchialsystems führt die Inhalation des Methacholins zu

einer Bronchienverengung mit damit einhergehender Schweratmigkeit, Engegefühl in der Brust und Hustenreiz. Durch ständige Überwachung des Atemwegswiderstandes im Bodyplethysmographen kann die den Test beaufsichtigende Person jedoch die Reaktion erfassen, auf eine Verschlechterung der Atemfähigkeit des Probanden reagieren, den Test gegebenenfalls abbrechen und der Schweratmigkeit durch inhalative Verabreichung eines Bronchodilatators entgegenwirken. Dabei tritt binnen Minuten eine vollständige Erholung ein. Der Proband konnte auch bei jeder Art von Unwohlsein den Test vorzeitig beenden. Durch Inhalation einer stufenweise steigenden Dosis von MCH und kontinuierliche Überprüfung des Atemwegswiderstandes im Bodyplethysmographen kann nicht nur das Vorhandensein einer unspezifischen Hyperreagibilität, sondern auch deren Grad bestimmt werden [97, 98].

Zunächst erfolgte eine normale Bodyplethysmographie. Der so gemessene spezifische Atemwegswiderstand durfte für die Durchführung der anschließenden Provokation nicht über 1,5 kPa\*s liegen. Während des MCH-Tests saß der Proband in der geöffneten Kabine des Bodyplethysmographen. Er atmete während der Inhalationsphasen in Ruheatmung durch ein Mundstück, das an die Verneblerapparatur angeschlossen war. Zur Kontrolle wird zunächst 0,9%ige vernebelte NaCl-Lösung inhaliert und daraufhin der Atemwegswiderstand gemessen. Danach erhält der Proband schrittweise steigende Dosen von Methacholin. Zu Beginn jeder Einatmung wurde eine definierte Menge von 3,2%igem Methacholinchlorid vernebelt und vom Probanden inhaliert.[99] Die Inhalation wurde spätestens dann beendet, wenn der spezifische Atemwegswiderstand sich verdoppelt hatte und mindestens 2kPa\*s betrug. Der Proband hatte inklusive der NaCl-Kontrolle maximal sechs Inhalationsdurchgänge zu absolvieren, auf die jeweils die Messung im Bodyplethysmographen folgte. Die Messungen beinhalteten eine Ruheatmungsmessung der Atemschleifen, das Shutter-Manöver und ein forciertes Atemmanöver.

#### f) Wasserstoffperoxid in der Ausatemluft

Die von Druckern abgegebenen UFP könnten im Prinzip in den Atemwegen oxidativen Stress induzieren, wie das für andere, auch industriell hergestellte UFP beschrieben ist. UFP sind aufgrund ihrer hohen Oberflächenladung generell sehr reaktiv; ROS werden zum Teil direkt auf der Oberfläche der Partikel gebildet. Vor allem metallhaltige Partikel können hier als Katalysatoren dienen.[54] Die Schädigung von Makromolekülen und Zellmembranen durch ROS wurde bereits in der Vorstudie beschrieben. Der Vorher-Nachher-Vergleich der Konzentration von  $H_2O_2$  im Atemkondensat könnte einen Hinweis darauf geben, ob Laserdruckeremissionen in der Lunge eine derartige stressinduzierende Wirkung haben, da die Zusammensetzung des Kondensats von der Zusammensetzung der bronchialen und alveolären Flüssigkeit abhängt. Ein vermehrter Anfall von  $H_2O_2$  in der Lunge sollte zu einem Konzentrationsanstieg von  $H_2O_2$  im Atemkondensat führen.

Die Probengewinnung, Aufbereitung und Analyse erfolgte analog der Vorstudie. Da sich der Studienort am Campus Großhadern befand, wurden die Mikrowellplatten für den Transport zum Messgerät am Campus Innenstadt luftdicht abgeklebt in Kühlboxen der Firma Biocision (Abbildung 14) gelagert. Diese garantieren durch einen vorgekühlten Akku für bis zu 10 Stunden

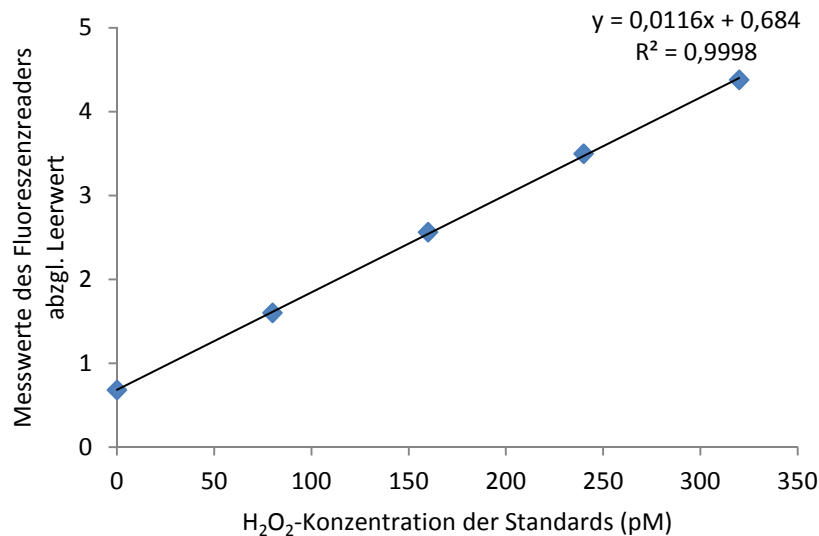
eine Temperatur von 4°C. Zum Abkleben wurden PE-Adhäsiv-Folien der Firma Kisker Biotech verwendet. Diese verhinderten Verdunstung und Kontamination. Die Folien wurden zuvor auf ihre inertten Eigenschaften und ihre unproblematische Handhabbarkeit hin überprüft.



*Abbildung 14: Transport-Box für Mikrowell-Platten.*

Ein Beispiel der Analyse geben nachfolgende Abbildung und Tabelle:





Steigung	0,0116
Achsenabschnitt	0,6840
Absolute Konzentration in pmol	58,8855
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> -Konzentration in µmol/µL	0,3926

Abbildung 15, Tabelle 6: Beispiel für die Bestimmung des H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-Gehaltes im Atemkondensat; Proband DKEBET15.0.

#### g) Entzündungsmarker in Blut und Nasensekret

Bei der Voruntersuchung sowie vor und nach jeder Exposition wurde den Probanden Blut entnommen. Aliquots des Serums wurden in Mikroröhrchen der Firma Sarstedt gefüllt und bei -20°C eingefroren. Die Mikroröhrchen wiesen Biosphere®-Qualität, also höchste biologische Reinheit auf.

Ebenso wurden den Probanden bei jedem Untersuchungsdurchlauf Baumwoll-Wattepads in den mittleren Nasengang eingelegt. Diese saugten während der fünfzehnminütigen Verweilzeit die von der Nasenschleimhaut gebildete Flüssigkeit auf. Durch Zentrifugation in speziell konzipierten Sammelröhrchen konnte dieses Sekret gewonnen werden. Je nach Feuchtigkeitsgrad der Schleimhäute mussten die Wattepads zwischen ein- und sechsmal eingelegt werden. Die Flüssigkeit wurde ebenfalls in Mikroröhrchen mit Biosphere-Qualität® gefüllt und bei -20°C asserviert.

Sowohl Serum also auch Nasensekret wurden auf die Konzentrationen von Zytokinen untersucht. Zytokine sind Signalstoffe der zellulären Kommunikation (Übersicht z.B. in [100]). Sie regulieren Wachstum, Differenzierung und Aktivierung von Zellen. Man unterscheidet folgende Hauptgruppen:

- Interleukine
- Interferone
- Tumornekrosefaktoren
- Chemokine
- Koloniestimulierende Faktoren (CSF)
- Andere

Interleukine werden von Leukozyten produziert. Sie führen zur Reifung oder Aktivierung von Immunzellen. Interferone besitzen eine antivirale, im Falle des Interferon- $\alpha$  auch eine antitumorale Wirkung. Tumornekrosefaktoren führen zu lokalen Entzündungsreaktionen und erhöhen die vaskuläre Permeabilität, um das Austreten von Zellen, Protein und Flüssigkeit zu ermöglichen. Der Name rührt daher, dass Tumornekrosefaktoren unter anderem dazu in der Lage sind, Tumorzellen abzutöten. Die Aufgabe der Chemokine ist die Chemotaxis und Aktivierung von Leukozyten. Koloniestimulierende Faktoren sind Wachstumsfaktoren und werden nach ihrer Zielpopulation benannt.

Aufgrund der Vermutung, dass die inhalierten Nanopartikel eine Entzündungsreaktion im Organismus auslösen könnten, wurden folgende sieben Zytokine ausgewählt, die diesem Pathomechanismus entsprechen: Interleukin 1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ), Interleukin 5 (IL-5), Interleukin 6 (IL-6), Interleukin 8 (IL-8), Granulocyte Macrophage Colony-Stimulating Factor (GM-CSF), Interferon gamma (IFN- $\gamma$ ) und Tumornekrosefaktor alpha (TNF $\alpha$ ). In die Auswahl gingen auch Vorerfahrungen zur Nachweisbarkeit aus der Pilotstudie ein, in der ebenfalls ein Panel von Entzündungsmediatoren gemessen worden war.

IL-1 $\beta$  wird vor allem in Makrophagen und Blut-Monozyten produziert, ist ein pro-inflammatorisches Zytokin und führt nach Ausschüttung unter anderem zu Fieber und einer Akute-Phase-Reaktion. Es triggert die Ausschüttung von IL-6 [101].

IL-5 spielt eine maßgebliche Rolle bei der Bildung, Reifung und Rekrutierung von eosinophilen Granulozyten und somit in der Pathogenese eosinophiler Entzündungen [102].

Die Funktionen von IL-6 sind sehr vielfältig. Unter anderem induziert es die Synthese von Akute-Phase-Proteinen, führt zur Differenzierung von B-Zellen in Immunglobulin-seziernde Zellen und stimuliert die Hämatopoese.[103] Außerdem wurde beobachtet, dass IL-6 die Osteoklastenbildung fördert und so den Knochenabbau beeinflusst [104]. Erhöhte IL-6-Werte im Serum treten bei allen Entzündungsreaktionen auf, z.B. Sepsis, Autoimmunerkrankungen, Gewebsschäden oder Infektionen. IL-6 ist also ein relativ unspezifischer Marker.

Das Chemokin IL-8 wird von Phagozyten und Gewebszellen nach Infektionen oder anderen Stimuli freigesetzt. Es bewirkt eine chemotaktische Einwanderung von neutrophilen Granulozyten aus dem Blut in das betroffene Gewebe und die Freisetzung von Enzymen aus deren Granula [105].

GM-CSF stimuliert die Differenzierung von hämatopoetischen Vorläuferzellen zu Granulozyten und Makrophagen und beeinflusst die Eigenschaften reifer Entzündungszellen wie deren Überlebenszeit und Phagozytose-Aktivität [106].

IFN $\gamma$  hat eine aktivierende Wirkung auf Makrophagen und neutrophile Granulozyten. Diese werden zur Phagozytose und Produktion bakteriziden Stickstoffmonoxids angeregt [107].

Zu den Aufgaben von TNF $\alpha$ , einem proinflammatorischen Protein, das unter anderem, Fieber, Knochenabbau und Anämie verursacht, gehören auch die Aktivierung von Granulozyten und T-Zellen, die Rekrutierung von Entzündungszellen im Gewebe und die Aktivierung der Gerinnung [108].

Die Analyse der Proben erfolgte mit einem Bio-Plex Pro™ Assay (Bio-Rad Laboratories, Inc.) nach dem Prinzip eines Sandwich-ELISA (Abbildung 16). Kovalent an magnetische Mikrokugeln gebundene Antikörper interagieren mit der Probe, die den gesuchten Biomarker enthält. Waschdurchgänge entfernen Protein, welches nicht an die Antikörper gebunden wurde. Danach werden mit Biotin markierte Antikörper hinzugefügt, so dass ein Sandwich-Komplex entsteht. Der endgültige Detektionskomplex entsteht durch Zugabe von Streptavidin. Phycoerythrin (PE) ist der fluoreszierende Indikator, welcher nach Anregung durch einen Laser ein Signal generiert.

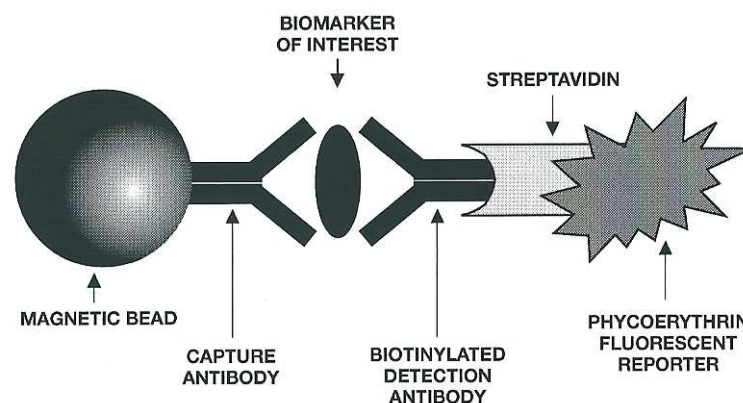


Abbildung 16: Bio-Plex Immunassay [109].

Zur Analyse wurde ein Bio-Plex Reader eingesetzt. Er arbeitet mit zwei verschiedenen Lasern, von denen einer der Substanzklassifikation und der andere der Anregung von PE dient. Die Konzentration des Biomarkers, der an jede Mikrokugel gebunden ist, ist proportional zur medianen Intensität der Fluoreszenz [109].

Bei drei Probanden war wegen ungenügender Probenmenge des Nasensekrets eine vollständige Analyse aller Vorher-Nachher-Werte nicht möglich.

#### h) ECP und Gesamt-IgE im Blut

Neben oben genannten, primär wissenschaftlich verwendeten Entzündungsmarkern wurden die Serum-Proben auch auf Substanzen hin untersucht, die in der Allergiediagnostik routinemäßig bestimmt werden.

Das von eosinophilen Granulozyten gebildete Eosinophile Kationische Protein (ECP) korreliert mit dem Grad der Entzündungsreaktion beim Asthma bronchiale und kann zu dessen Verlaufskontrolle verwendet werden. Deshalb ist dieser Parameter interessant für die Charakterisierung der Probanden, besonders in der Gruppe der Asthma-Probanden, da diese während des Untersuchungszeitraums klinisch stabil sein mussten. Allerdings ist die Konzentration von ECP auch darüber hinaus ein möglicher Marker einer zellulären Aktivierung.

Eosinophile Granulozyten sind gewebeständige Zellen. Nur ein sehr geringer Anteil zirkuliert im Blut. IL-5 stimuliert ihre Bildung und Reifung im Knochenmark. Die Zytokine IL-1, IL-6 und TNF $\alpha$  bewirken eine Freisetzung der eosinophilen Granulozyten aus dem Knochenmark. Am Wirkungsort angekommen, werden sie durch Chemokine und Zytokine für die Stimulation durch Antigen sensibilisiert, wodurch sie unter anderem mehr IgE-Rezeptoren exprimieren (Übersicht z.B. in [110]). Die in Granula enthaltenen Enzyme, basischen Proteine und pro-inflammatorischen Mediatoren werden nach Aktivierung durch die Komplementfragmente C3a und C5a freigesetzt. Für die Analyse von Serumproben ist wichtig, dass ECP erst im Rahmen der Blutgerinnung aus voraktivierten Eosinophilen freigesetzt wird [111].

Die von B-Lymphozyten gebildeten Antikörper vom Typ IgE sind für allergische Reaktionen vom Typ I (Soforttyp) verantwortlich. Zu diesen Reaktionen gehören beispielsweise Heuschnupfen und Asthma. Die Bestimmung des Gesamt-IgE-Spiegels dient vor allem dem Monitoring des allergischen Geschehens bei entsprechenden Probanden.

Die Serumproben wurden für die Analyse auf Raumtemperatur gebracht. Darauf folgen bei der verwendeten ImmunoCAP-Technologie 4 Reaktionsschritte:

1. Serum-Inkubation: während der 30-minütigen Inkubation mit IgE- bzw. ECP-Antikörpern bei 37°C kommt es zur Bildung von Antigen-Antikörper-Komplexen mit den Patientenproben; im darauffolgenden Waschschrift werden nicht spezifisch gebundene Serum-Antikörper eliminiert.
2. Konjugat-Inkubation: während einer weiteren 24-minütigen Inkubation mit enzymmarkierten Antikörpern kommt es zur Bildung von Antigen-Antikörper-Komplexen; der folgende Waschschrift entfernt nicht spezifisch gebundene Konjugat-Antikörper.
3. Substrat-Inkubation: durch Zugabe einer Entwicklerlösung kommt es zur Substratumsetzung
4. Stopp-Reaktion: Stopp der Substrat-Umsetzung durch Zugabe einer Stopp-Lösung

Darauf folgt die automatische Messung der Fluoreszenz.

#### i) 8-OHdG im Blut

Khatri et al., die eine Expositionsstudie im Copyshop durchgeführt hatten, fanden bei den Probanden einen Anstieg von 8-hydroxy-2'-deoxyguanosin (8-OHdG) im Urin [112]. Angeregt durch diese Veröffentlichung wurde nachträglich die Analyse des Serums auf 8-OHdG beantragt. Die Sammlung von Urin war im Studienprotokoll nicht enthalten, so dass diese Proben nicht vorlagen. Ausreichende Serum-Aliquots waren jedoch verfügbar. Eine Arbeitsgruppe des

Instituts für Arbeits-, Sozial- und Umweltmedizin um Dr. S. Karrasch, S. Peters und A. Kronseder führte die Analysen durch.

Die DNA-Base Guanin ist besonders anfällig für oxidative Schädigung. Während der Reparatur geschädigter DNA im Organismus wird unter anderem das „Abfallprodukt“ 8-OHdG aus den DNA-Strängen herausgeschnitten. 8-OHdG ist sodann in Blut, Urin und Geweben nachweisbar. Bei Rauchern, in deren Lungen durch Zigarettenrauch oxidative Prozesse stattfinden, wurden beispielsweise in peripheren Lungenabschnitten höhere Konzentrationen an 8-OHdG als bei Nichtrauchern gefunden [113]. Falls Nanopartikel in oxidativen Stress im Organismus auslösen, sollten die Konzentrationen an 8-OHdG auch im Serum ansteigen.

Die Analyse erfolgte mittels Highly Sensitive 8-OHdG Check ELISA-Kits (Japan Institute for the Control of Aging, JalCA) nach folgendem Prinzip:

1. eine mit 8-OHdG vorbeschichtete Mikrotiterplatte wurde mit einem monoklonalen Antikörper für 8-OHdG und der Probe bzw. dem Standard beimpft. Je höher die Konzentrationen von 8-OHdG in der Probe waren, desto weniger Antikörper wurde an das 8-OHdG auf der Platte gebunden.
2. Im folgenden Waschschrift blieben nur die Antikörper zurück, die an 8-OHdG auf der Platte gebunden waren.
3. Zugegeben wurde ein enzymmarkierter sekundärer Antikörper, der an den monoklonalen Antikörper bindet.
4. Ein Waschschrift entfernte ungebundene sekundäre Antikörper.
5. Die Zugabe einer Färbelösung führte zu einer Farbentwicklung abhängig von der an die Platte gebundenen Menge an Antikörpern.
6. Die Farbreaktion wurde gestoppt und die Absorption bei 450nm in einem Varioskan Flash (...) gemessen.

Je mehr 8-OHdG in der Probe vorhanden war, desto geringer war die Absorptionsrate.

#### j) Elektrokardiogramm

Während der Voruntersuchung und der Expositionstermine wurde ein Langzeit-EKG mit spezieller 7-poliger Ableitung aufgezeichnet. Das Aufzeichnungsgerät der Firma Schiller Medilog®, Ottobrunn, wurde mittels Gummiband um die Taille getragen und die Daten auf einer SD-Karte gespeichert. Das während der Voruntersuchung aufgezeichnete EKG diente vor allem dem Ausschluss schwerer Herzrhythmusstörungen und der Anpassung der Ableitungspunkte.

Die Auswertung der EKG-Protokolle aus den Expositionssitzungen zielt auf spezielle Parameter ab. Im Fokus des Interesses steht die Herzratenvariabilität. Versuche am Helmholtz-Zentrum München mit dem sogenannten Langendorff-Herzen, einem außerhalb des Körpers autonom schlagenden Schweineherzen, zeigten, dass nach Instillation von Nanopartikel-haltigen Lösungen die Herzrate anstieg und Arrhythmien, ein Anstieg des koronaren Flows, ST-Hebungen und AV-Blocks zu beobachten waren [58].

Die EKG-Auswertung mittels Computeranalyse erfolgt zu einem späteren Zeitpunkt am Institut für Arbeitsmedizin und Sozialmedizin der Heinrich Heine Universität Düsseldorf und ist nicht Bestandteil dieser Arbeit; sie war auch nicht Bestandteil des Forschungsantrages bei der DGUV.

## ***1.2 Kognitive Leistungstests***

Kognitive Funktionen, bei denen überhaupt kurzfristig, d.h. im Rahmen einer kurzen Exposition, Veränderungen erwartet werden können, sind Aufmerksamkeit und Konzentrationsfähigkeit, Kurzzeitgedächtnis und Psychomotorik. Zur Erfassung dieser Bereiche wurden etablierte und international anerkannte Instrumente eingesetzt, die nur wenig Zeit in Anspruch nehmen und die für die speziellen Anforderungen der Untersuchung adaptiert wurden.

Beeinträchtigungen der kognitiven Leistungsfähigkeit könnten im Prinzip einerseits aufgrund von systemischen Effekten der Druckermissionen auftreten, andererseits psychosomatischen Ursprungs sein. Als eher unwahrscheinlich können kurzfristige neurotoxische Effekte der Nanopartikel gelten. Alle Tests wurden zur optimalen Anpassung an die Erhebungssituation in der Klimakammer in eine computergestützte Testbatterie integriert.

Da es für manche Tests Übungseffekte gibt, fand ein Testdurchlauf bereits am Voruntersuchungstag statt. Die Probanden waren folglich mit der Aufgabenstellung bereits vertraut. Von jedem Test wurden Parallelförmigkeiten eingesetzt, um Lerneffekte zu minimieren.

### **a) Aufmerksamkeits- und Belastungstest**

Dieser Test wurde von Rolf Brickenkamp entwickelt [114]. Es handelt sich um einen Durchstreich-test, der die Konzentration nach dem Prinzip „attention to detail“ überprüft. Die erste Auflage des Tests, der auch als d2-Test bezeichnet wird, erschien 1962. Er wurde in den folgenden Jahren hauptsächlich zur Beurteilung der Kraftfahreignung von Personen eingesetzt.

Der Proband hat die Aufgabe, in einer Reihe mit den Buchstaben p und d nur diese anzukreuzen, die um sich herum zwei vertikale Striche aufweisen. Er hat zwanzig Sekunden Zeit für eine Zeile, die optisch hervorgehoben wird und soll immer von links nach rechts vorgehen. Nach Ablauf der Zeit springt das Computerprogramm automatisch zur nächsten Zeile, mit der der Proband ohne Zögern fortfahren soll. Der Test umfasst 14 Zeilen mit 47 Buchstaben. Der Proband wurde darauf hingewiesen, so schnell wie möglich, aber auch ohne Fehler zu arbeiten. Dies bedeutete, dass sowohl Arbeitstempo als auch Sorgfalt überprüft wurden.

Die Testdurchführung erfordert durch die Konzentration auf einen bestimmten Stimulus ein hohes Maß an selektiver Aufmerksamkeit unter Zeitdruck. „Dieses Grundmuster für selektive Aufmerksamkeit kann vereinfacht so beschrieben werden: Probanden werden mit einer Kette ähnlicher visueller Stimuli konfrontiert, die nach vorgegebenen Regeln als handlungsrelevant und oder handlungsirrelevant identifiziert werden müssen. Auf handlungsrelevante Stimuli (hier: d mit zwei Strichen) ist möglichst schnell und fehlerlos in bestimmter Weise (hier: durchstreichen) zu reagieren, während auf handlungsirrelevante Stimuli nicht reagiert werden darf. Ein Proband muss also bei Durchführung eines Verfahrens, das selektive Aufmerksamkeit zu prüfen vorgibt, sein Wahrnehmungsfeld nach Kriterien der Handlungsrelevanz strukturieren.

Dabei sind handlungsrelevante Stimuli zu beachten und durch adäquate Reaktionen zu beantworten, während handlungsirrelevante Stimuli quasi unbeachtet bleiben...“[114].

Der Test erfüllt die Kriterien psychometrischer Güte sehr gut, kann über einen großen Altersbereich von Probanden eingesetzt werden und hat sich bei einer Fülle unterschiedlichster medizinischer und psychologischer Fragestellungen bewährt [115-118].

#### b) Benton-Test

Der Benton-Test, dessen erste Form 1945 von Arthur Benton [119] entwickelt wurde, ist ein Test zur Detektion von Schwächen im Bereich des unmittelbaren Gedächtnisses für visuell-räumliche Stimuli. In der verwendeten Wahlform (Form M) wird dem Probanden für 10 Sekunden eine Stimuluskarte mit einfachen geometrischen Abbildungen gezeigt, die er sich genau einprägen muss. Danach wählt der Proband aus vier ähnlichen Abbildungen diejenige aus, die der vorher gesehenen entspricht [119].

Ausgewertet wurde die Anzahl der richtigen Lösungen. Wie bei anderen Tests zur kognitiven Leistungsfähigkeit ist auch im Benton-Test eine Abnahme der Leistung jenseits der fünfzigsten Dekade zu beobachten. Zudem kann es sein, dass rein zufällig die richtige Lösung gewählt wird. „In 92 von 100 Fällen wählt ein Proband, der rein nach dem Zufallsprinzip vorgeht, mindestens zwei oder mehr richtige Lösungen“. Erreicht ein Proband eine oder weniger richtige Lösungen, so kann dies beispielsweise auf Simulation zurückzuführen sein [119].

Auch dieser Test weist eine hohe Testgüte auf, kann über einen breiten Altersbereich eingesetzt werden und war mit etwa 5 Minuten Durchführungsdauer keine große Belastung für die Studienteilnehmer. Aktuelle Studien mit dem Benton-Test finden sich z.B. bei Bobić und Gomzi [120], Messinis et al. [121], oder Waldstein et al. [122]. Die Testergebnisse können Aufschluss darüber geben, ob das Kurzzeitgedächtnis der Probanden beeinträchtigt ist.



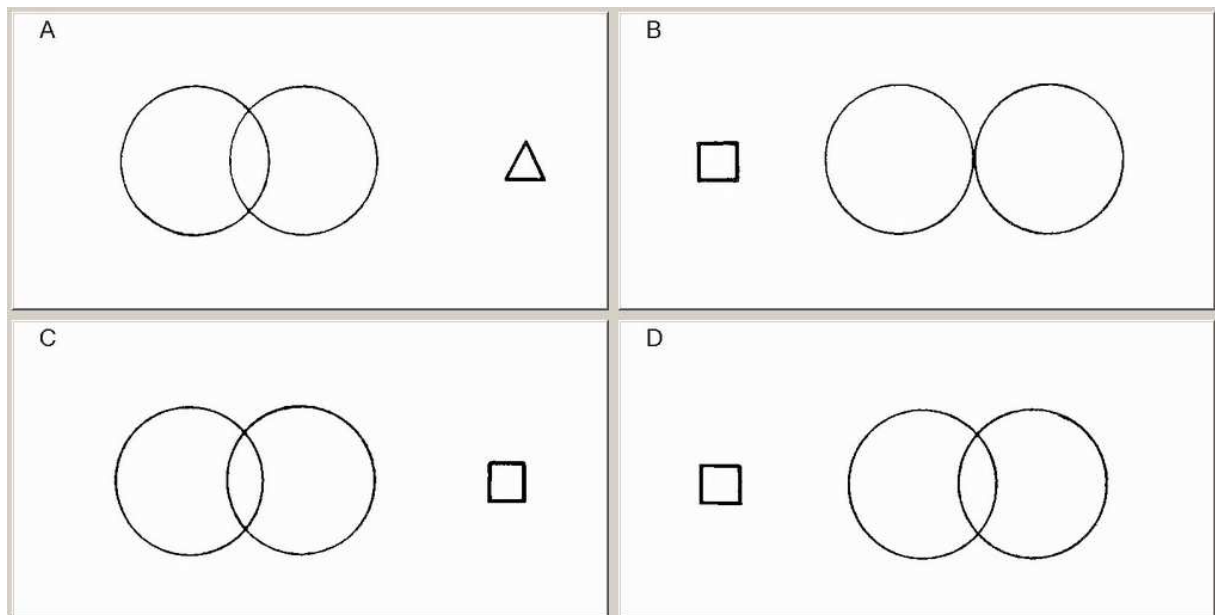


Abbildung 17: Beispiel für den Benton-Test; Der Proband muss aus diesen 4 Vorlagen die vorher gezeigte wählen.

### c) Labyrinth-Test

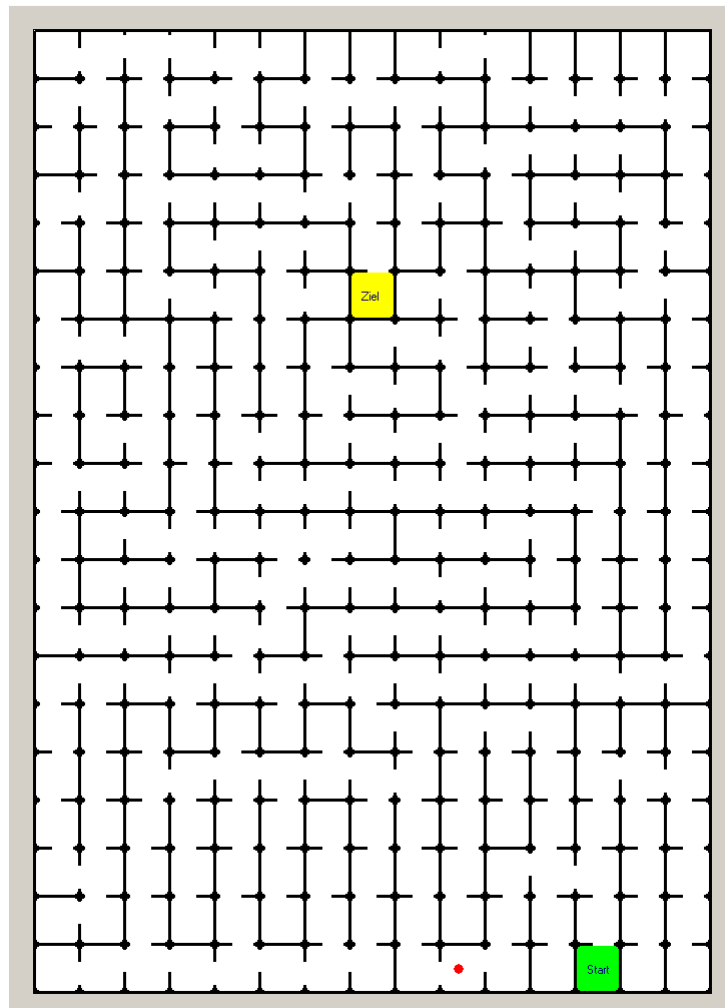
Im Labyrinth-Test [123] wird die psychomotorische Leistungsfähigkeit, insbesondere feinmotorische Hand-Auge-Koordination überprüft. Der Proband hat die Aufgabe, am Computer den Weg zwischen zwei Punkten in einem Labyrinth zu finden. Hierzu klickt er mit der Computermaus einen kleinen Punkt im Startfeld an, hält die linke Maustaste gedrückt und zieht den Punkt in die gewünschte Richtung. Es zählen sowohl Schnelligkeit als auch Genauigkeit der Steuerung der Computermaus. Stößt der Proband an eine der eingezeichneten Wände, so verliert der Mauszeiger den Kontakt zum Punkt und dieser muss erneut angeklickt werden. Den Probanden werden jeweils vor und nach Exposition sowie am Voruntersuchungstag zwei Labyrinth vorgelegt. Alle Labyrinth hatten eine identische Zellzahl und die gleiche Anzahl Zellen, die bis zum Ziel zu durchfahren waren.

Die Auswertung erfasst, ob der Proband das Ziel in der vorgegebenen Zeit erreicht hatte, wie viel Zeit benötigt wurde und wie häufig er abgesetzt oder die Wände berührt hatte. Es gibt verschiedene Auswertungsparameter:

- Lösung = Erreichen des Ziels in Zeit
- Schnelligkeit = tatsächlich benötigte Zeit
- Flüssigkeit = Häufigkeit des Absetzens
- Genauigkeit = Häufigkeit des Anstoßens

Labyrinthtests sind eine etablierte Gruppe von Verfahren (vgl. z.B. [124]). Es gibt eine große Anzahl von Labyrinthtests, die zum Teil sehr unterschiedliche Schwerpunkte haben (von der Eignungsdiagnostik für Hubschrauberpiloten bis zur Erfassung psychomotorischer Einschränkungen bei Epilepsie-Erkrankten ([125, 126]). Aufgrund dieser Fülle und der häufig sehr aufwändigen technischen Voraussetzungen wurde für diesen Leistungsbereich ein eigener

Labyrinthtest programmiert, der mit einer Durchführungszeit von 3 Minuten pro Labyrinth und zwei Labyrinthen pro Durchgang ebenfalls eine effiziente Erfassung ermöglichte (Abbildung 18).



*Abbildung 18: Labyrinth-Test. Der Proband muss den roten Punkt anklicken und vom Start zum Ziel ziehen.*

### **1.3 Fragebögen**

Die klinischen und psychologischen Untersuchungen wurden durch Fragebögen ergänzt. Diese sollten unter anderem dem Probanden die Möglichkeit geben, subjektiv empfundene Beschwerden zu schildern und zu quantifizieren; dies diente als Kontrollvariable zur Absicherung von Effekten. Auch der bisherige Umgang mit Druckern und Kopierern, die Geruchssensitivität, Affektivität sowie Vorerkrankungen wurden zu Beginn der Studie erfasst.

#### **a) Druckerkontakt**

Die Probanden wurden gebeten, am Voruntersuchungstag einen hierfür eigens entworfenen elfseitigen Fragebogen auszufüllen, um eine genaue Übersicht über ihren bisherigen Gebrauch von Laserdruckern und -kopierern zu erhalten. Dieser erfasste die aktuelle Situation und jeglichen Kontakt mit den Geräten in der Vergangenheit. Der Fragebogen ist im Anhang dokumentiert.

#### **b) Vorerkrankungen und Rauchen**

Am Voruntersuchungstag erfolgte eine ausführliche Anamneseerhebung. Die Probanden wurden mit Hilfe eines eigens entworfenen Fragebogens zu chronischen Erkrankungen, Allergien und Medikamenteneinnahme, sowie spezifisch zu Lungenerkrankungen und Herzbeschwerden befragt. Daran schloss sich eine Befragung zum Rauchverhalten des Probanden und in seinem Lebensumfeld an.

Bei jedem Expositionstermin wurden die Daten zu Erkrankungen und eingenommenen Medikamenten sowie zu Allergiesymptomen, Atemwegsinfekten und Herzbeschwerden aktualisiert.

#### **c) CAUS und PANAS**

Das Probandenkollektiv der Betroffenen steht im besonderen Fokus dieser Studie, da diese Personengruppe im Vergleich zur Durchschnittsbevölkerung eine besondere Sensitivität gegenüber Druckeremissionen beschreibt. Neben einer körperlichen Prädisposition für die Ausprägung von Symptomen dürfen auch andere Faktoren, vor allem solche der empfundenen Sensitivität gegenüber Reizen, nicht außer Acht gelassen werden.

Kieswetter et al. [127] entwickelten die Skala „Chemische Geruchssensitivität“ zur Einordnung von Personen in die Gruppe derer mit selbstberichteter Multipler Chemischer Sensitivität (sMCS). Der Proband musste für jeden der acht abgefragten Inhalte ankreuzen, inwiefern er auf ihn zutraf. Die Inhalte umfassten Umwelttoxinen (Farbe und Lacke, Rauchabgase, Reinigungs-

mittel, Sprays) und damit verbundene Unverträglichkeitsreaktionen (Atemnot, Schwindel, Übelkeit). Der Fragebogen wurde einmalig am Voruntersuchungstag vorgelegt. Er befindet sich zur Dokumentation im Anhang.

Der PANAS (Positive and Negative Affect Schedule) nach Watson et al. [128] ist eine Adjektivliste, in der der Proband ankreuzen musste, wie sehr jedes Adjektiv im Zeitraum der letzten zwölf Monate auf ihn zutraf. Die Skala reicht von „ganz wenig oder überhaupt nicht“ bis „äußerst“. Der Fragebogen umfasst zwanzig Adjektive und lässt Aussagen über die Stimmungslage des Probanden zu; er befindet sich zur Dokumentation im Anhang.

#### d) Symptomskalen

Vor und nach jedem Aufenthalt in der Expositions-kammer wurde den Versuchspersonen eine Symptomliste mit sechzehn Analogskalen zu Allgemein-, Haut- und Atemwegssymptomen vorgelegt. Die Probanden wurden gebeten, für jedes Symptom an der Stelle der zehn Zentimeter langen visuellen Analog-Skala eine Markierung zu setzen, die den aktuellen Zustand widerspiegelt. Die Skala reichte von „überhaupt nicht“ bis „sehr stark“. Ein solcher Fragebogen wurde beispielsweise von Schnuch et al. [129] in einer Duftstoffstudie eingesetzt; er findet sich zur Dokumentation im Anhang.

#### e) Wohlbefinden in der Kammer

Zusätzlich zu den Symptomskalen wurden den Probanden nach jedem Aufenthalt in der Expositions-kammer drei weitere visuelle Analogskalen mit den Überschriften „Wie war Ihr Wohlbefinden in der Kammer?“, „Wie stark haben Sie einen Geruch in der Kammer wahrgenommen?“ und „Wie sehr haben Sie sich durch einen Geruch in der Kammer belästigt gefühlt“ vorgelegt. Während der Studiendurchführung wurde beschlossen, nach den Expositionen auch die Frage „Wie sehr haben Sie sich durch die Druckeraktivität in der Kammer insgesamt beeinträchtigt gefühlt?“ anzuhängen. Diese Fragen wurden gewählt, da sie einen Hinweis darauf liefern könnten, ob Probanden sich subjektiv durch den HE mehr beeinträchtigt fühlten, also ein Unterschied zwischen den Expositionen empfunden wurde.

In einem freien Kommentarfeld war es den Probanden ferner möglich, besondere Vorkommnisse oder Eindrücke während des Aufenthalts in der Kammer zu schildern.

## **2. Zeitprotokoll**

Die standardisierte Reihenfolge der Untersuchungen ist in Tabelle 7 zu sehen. Jeder Proband wurde um 10:00 Uhr einbestellt, um circadiane Effekte zu vermeiden. Es ist bekannt, dass Lungenfunktionsparameter einer 24-Stunden-Rhythmik unterliegen, die allerdings nur bei Asthmatikern ein merkliches Ausmaß erreichen können.

Für jeden Probanden wurde ein sekundengenaues individuelles Zeitprotokoll per Laptop aufgezeichnet. mittels des Programms „TClock“. Dazu wurden mittels eines Skripts (unter Verwendung der freien Software „AutoHotkey“) bestimmten Tasten definierte Eingaben mit Uhrzeit zugeordnet. (Abbildung 20). In einer Excel-Tabelle wurden alle Aktionen des Probanden mit zugehöriger Uhrzeit gelistet. Dies ist vor allem zur Auswertung des Langzeit-EKGs hilfreich.

Tabelle 7: Ablauf der beiden Expositionen gegenüber LDS.

	Proband	Untersucher
Vorbereitung		Einlaufen und Kalibration der Messgeräte, Überprüfung der Uhrzeit, Laborvorbereitungen, Vorbereitung der Drucker
	10:00 Uhr: Abholung des Probanden	
	Anamnese, Blutdruckmessung, Anlegen des EKGs	
		Start Klimaanlage Kammer
Voruntersuchung	Exhalierendes CO	
	NO-Kalibration und -Messung bei vier Flussraten	
	CO- und NO-Diffusionskapazität	
	Bodyplethysmographie	
	Kondensat-Sammlung	
	10-minütige Ruhezeit	Kondensataufbereitung
	Einlegen der Nasenwatte	
	Blutentnahme	
	Entfernen der Nasenwatte	
	Fragebogen zu Symptomen	Stopp Klimaanlage Kammer
	Toilettenbesuch	
Exposition	Betreten der Kammer	
	1. Testreihe Computertests	Probenaufbereitung
	Druckeraktivität für 75 Minuten, nach 50 Minuten 5-minütige Ruhezeit	
	2. Testreihe Computertests	
	Verlassen der Kammer	
Nachuntersuchung	Fragebogen Sympt. + Zusatzfragen Wohlbefinden	Start Klimaanlage Kammer
	evtl. Toilettenbesuch	
	Exhalierendes CO	
	NO-Kalibration und -Messung bei vier Flussraten	
	CO- und NO-Diffusionskapazität	Auslesen von Expositions-Messdaten (Grimm)
	Bodyplethysmographie	
	Kondensat-Sammlung	
	10-minütige Ruhezeit	Kondensataufbereitung
	Einlegen der Nasenwatte	
	Blutentnahme	
	Entfernen der Nasenwatte	
Nachbereitung		Vorbereitung der Drucker für nächsten Termin
		Probenaufbereitung
		Transport der Mikrowell-Platten zum Lesegerät
		Bestimmung der H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> -Werte im Atemkondensat



Abbildung 19: Dokumentations-Laptop mit Eingabebefehlen. Der grüne und rote Punkt bezeichnen Beginn und Ende der jeweiligen Probandenaktion.

### 3. Expositionsdesign

#### a) Expositions-kammer

Der Expositionsraum war ein schlicht ausgestatteter, luftdicht abgeschlossener Raum ohne Fenster, der über eine Klimaanlage belüftet wurde. Über diese ließen sich Luftfeuchte und -temperatur regulieren. Das Ausgangsklima wurde zu 21°C und 40% Luftfeuchte festgelegt. Die eingespeiste Luft wurde durch spezielle Filter gereinigt. Während der Exposition fand kein Luftaustausch in der Kammer statt, da in Anbetracht der fest eingestellten hohen Luftwechselrate die Verdünnungseffekte zu groß gewesen wären.

Die ursprüngliche Deckenbeleuchtung aus Neonröhren wurde durch spezielle LED-Leuchtröhren mit verminderter Wärmeabstrahlung ersetzt, um ein Aufheizen des Raumes zu minimieren (T8i LED Röhre, XBright, Nürnberg; Typ TPX5F-13-030-40-180). Die Wände wurden mit Postern aus mattglänzendem Papier gestaltet.

Es befanden sich insgesamt fünf Tische im Raum. Auf zwei verschiebbaren Tischen befanden sich die Drucker, deren Abluftschlitze in den Raum zeigten. Ein Tisch zur Rechten des Probanden diente der Positionierung von Ventilatoren, die eine Luftdurchmischung während der Druckphase gewährleisteten. Die Ventilatoren wurden in Richtung der rechten Wand aufgestellt, um die Probanden keinem direkten Luftstrom auszusetzen und dennoch eine gute Luftdurchmischung zu gewährleisten. Die mittlere Strömungsgeschwindigkeit betrug  $0,07 \text{ m/s}$  mit einem Maximum von  $0,46 \text{ m/s}$ . [130] Auf einem weiteren Tisch wurden die Monitoring-Geräte positioniert. Der vierte Tisch diente als Arbeitsplatz für den Probanden, siehe Abbildungen 21 und 22.

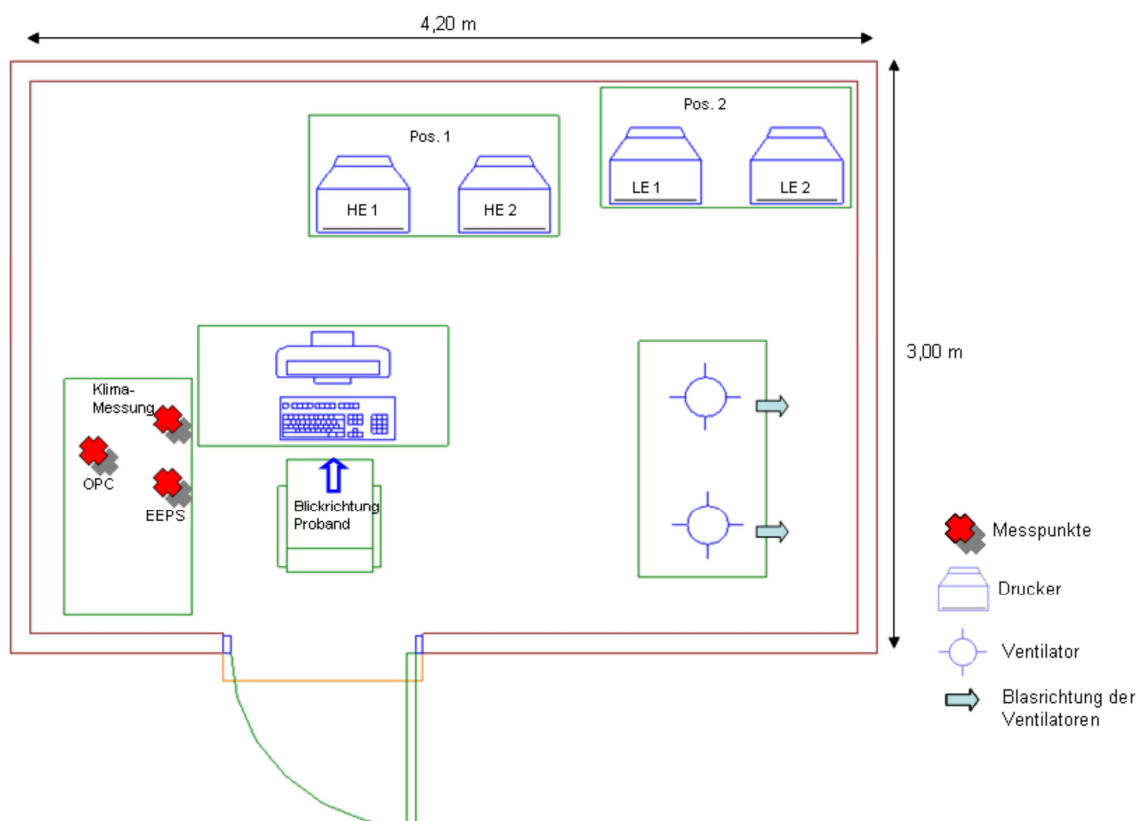


Abbildung 20: Aufbau der Expositions-kammer[131].





*Abbildung 21: Expositionsraum. Alle vier Drucker stehen im Raum. Die beiden aktiven Geräte stehen immer links. Der Wechsel erfolgte durch Tausch der beiden Tische.*

#### b) Drucker, Druckprogramm und Emissionen

Die Auswahl der Drucker erfolgte nach verschiedenen Kriterien. Zum einen war es wichtig, dass es sich um Modelle handelt, die aktuell in Büros verwendet werden, deren Druckgeschwindigkeit aktuellen Standards entspricht und die eine gute Betriebszuverlässigkeit aufweisen. Zum anderen sollten die Drucker bei jeder Probandenexposition ihr charakteristisches Emissionsmuster beibehalten. Die Markennamen und Modellnummern der Drucker wurden verdeckt. Der Betrieb der Geräte erfolgte ausschließlich mit Originalkartuschen des Herstellers.

Mitarbeiter der Bundesanstalt für Materialforschung (BAM), Berlin, analysierten separat vor Beginn der Studie sowie im Rahmen des gemeinsamen Projektes mit der DGUV die Emissionen verschiedener Drucker:

*„Aus dem UBA-UFOPLAN Forschungsprojekt „Entwicklung eines Prüfverfahrens für das Umweltzeichen Blauer Engel“ liegen Ergebnisse zur Partikelgenerierung und -emission sowie zur chemisch/physikalischen Charakterisierung vor. Die Partikelemissionen der drei verwendeten Drucker wurden nach einem standardisierten Verfahren (ECMA 328:2010; ISO/IEC 28360:2012; RAL UZ 171:2012, Annex S-M) unter kontrollierten Bedingungen anzahlbasiert quantifiziert. Die chemische Charakterisierung der Partikelemissionen der*

drei verwendeten Drucker erfolgte ebenfalls bereits während der oben erwähnten UFOPLAN-Studie. (...) Anhand des Vergleichs der Element- und Substanzsignaturen im Aerosol mit denen von involvierten Materialien (Papier, Tonerpulver, Strukturmaterialien) konnten Quellen der Partikelemission identifiziert werden. Calciumhaltige Partikelbestandteile stammen aus dem Papier, während Partikel mit Si-, Cr-, Fe- und Zn-Bestandteilen aus Tonermaterialien stammen. Alkane stammen vornehmlich aus den Tonermaterialien, Ester, teilweise auch Alkene, stammen aus dem Papier. Die Kunststoffteile des Druckergehäuses und der Strukturteile sind Ursprung der Phthalate. Die nachgewiesenen Siloxane werden ihrer Verwendung als Schmiermittel zugeschrieben. Bromverbindungen stammen mit hoher Wahrscheinlichkeit aus Flammenschutzmitteln, freigesetzt aus thermisch belasteten Strukturbauteilen (Fixiereinheit) in Laserdruckern. Eine Methode zur Quantifizierung der einzelnen Elemente und Substanzen steht zurzeit noch nicht zur Verfügung.“ [130]

Das Studienprotokoll sah vor, jeden Probanden gegenüber Druckern mit hoher und geringer Emissionsrate zu exponieren. Für die beiden Szenarien wurden die Begriffe High- (HE) und Low-Emitter (LE)-Exposition verwendet. Aus den durch die BAM analysierten Druckern wurden für jedes der beiden Expositionsszenarien zwei Drucker ausgewählt. Somit konnte im Bereich HE ein großes Emissionsspektrum abgedeckt werden. Es wurden die Drucker aus dem Gerätepool gewählt, welche die höchsten Emissionsraten aufwiesen. Bei der LE-Exposition wurde der optische Eindruck für den Probanden durch den zweiten Drucker gewahrt. Für die Emission hatte dies keine Bedeutung, da die LE so gut wie keine Partikel abgaben. Die Geräteemissionen lagen im untersten Nachweisbereich der bei der BAM eingesetzten Messverfahren. Alle Probanden wurden gegenüber denselben Druckern exponiert.

Die verwendeten LDS waren:

- LE1: Hewlett-Packard HP 1215 N CLP (Farblaserdrucker),
- LE2: Hewlett-Packard HP 1515 CLJ CP (Farblaserdrucker),
- HE1: Epson N 3000 (s/w-Laserdrucker),
- HE2: Kyocera FS 1100 (s/w-Laserdrucker).

Diese Drucker sind inzwischen nicht mehr als Neugeräte am Markt verfügbar; teils werden Nachfolgemodelle mit verbessertem Emissionsverhalten angeboten.

Die Partikelemissionen der Drucker wurden im Neuzustand nach einem standardisierten Verfahren ([132], Annex S-M) unter kontrollierten Bedingungen in einer 1 m<sup>3</sup>-Emissionsmesskammer der BAM gemessen und anhand des Prüfparameters PER<sub>10</sub> quantifiziert. PER<sub>10</sub> gibt die Zahl der während eines 10-minütigen standardisierten Druckbetriebs unter kontrollierten Bedingungen in die Umgebung freigesetzten Partikel an. PER<sub>10</sub> ist nicht abhängig vom Messkammervolumen, vom Luftwechsel oder von Partikelverlusten in einer Messkammer und stellt daher einen geeigneten Vergleichsparameter zur Beurteilung der Partikelemission aus Laserdruckern dar. Die PER<sub>10</sub>-Werte der für die Expositionen ausgewählten Laserdrucker sind in Tabelle 8 angegeben. Der zulässige PER<sub>10</sub>-Prüfwert für die Vergabe des Umweltzeichens „Blauer Engel“ gemäß RAL-UZ-171 beträgt  $3 \times 10^{11}$ . Die ausgewählten High Emitter überschritten diesen Wert und lagen im oberen Bereich der Partikelemissionen des BAM-Gerätepools. Die

Partikelemissionen der Low Emitter lagen an der Untergrenze der nach der RAL-Prüfrichtlinie quantifizierbaren Partikelemission. Eine Übersicht über die von den Geräten emittierten Elemente und Verbindungen findet sich in Tabelle 9.

*Tabelle 8: PER<sub>10</sub>-Werte der für die Expositionen ausgewählten LDS.*

<b>Laserdrucker</b>	<b>PER<sub>10</sub></b>
High Emitter (HE) 1	1x10 <sup>12</sup>
High Emitter (HE) 2	3x10 <sup>12</sup>
Low Emitter (LE) 1	Emission zu gering für quantitative Auswertung
Low Emitter (LE) 2	2x10 <sup>9</sup>

*Tabelle 9: Übersicht der in den Laserdruckeraerosolen nachgewiesenen Elemente und Verbindungen. [130]*

<b>Drucker</b>	<b>Elemente</b>	<b>Verbindungen</b>
<b>High Emitter (HE) 1</b>	Si, Fe, Ca, Zn, Cr, S, Cl, Br	Essigsäure-Ester C23-Alkan C24-Alkan C25-Alkan C26-Alkan C27-Alkan C28-Alkan Phthalat Ester/Wachs
<b>High Emitter (HE) 2</b>	Ca	Alken C23-Alkan C24-Alkan C25-Alkan C26-Alkan C30-Alkan C31-Alkan C32-Alkan C33-Alkan C34-Alkan cyclisches Siloxan lineares Siloxan Phthalat Aromat Ester/Wachs
<b>Low Emitter (LE) 1</b>	Nicht nachweisbar	Nicht nachweisbar
<b>Low Emitter (LE) 2</b>	Nicht nachweisbar	Nicht nachweisbar

Die Messungen der Konzentrationen volatiler organischer Komponenten (VOC) im Raum erfolgten seitens der BAM, Berlin. Die verwendeten Mess-Röhrchen enthielten Tenax TA™

(Gerstel, Mühlheim a.d. Ruhr). Es handelt sich um ein poröses Polymer, das insbesondere flüchtige und mittelflüchtige Verbindungen adsorbiert [133]. Diese Verbindungen waren in der Klimakammer in so geringer Konzentration vorhanden, dass sie vom Kammeruntergrund und von Substanzen, die die Testpersonen selbst abgaben, überlagert wurden [131]. Dies stimmt mit den Ergebnissen der Raumlufthuntersuchungen in der Pilotstudie von Mersch-Sundermann überein [41].

Gerade ältere Geräte emittieren auch Ozon. Bekannt ist, dass eine erhöhte Umwelt-Ozonbelastung das Auftreten von Herz- und Lungenerkrankungen begünstigt [134, 135]. Die Messung der Ozonwerte erfolgte durch das Landesamt für Gesundheit und Lebensmittelsicherheit in München mittels Infrarotspektrometrie. Die vom Messgerät (DX4030, Firma Gasmet Technologies Oy, Finnland) angegebenen Werte lagen zwischen 0,03 und 0,07 ppm [136] und unterhalb der zum Zeitpunkt der Messung im Sommer herrschenden Außenluftkonzentrationen, vor allem wenn man berücksichtigt, dass aufgrund des wenig selektiven Messprinzips die Werte im gegebenen Konzentrationsbereich eher überschätzt waren; dies wurde durch Vergleichsmessungen mit empfindlicheren Verfahren nahegelegt. Die verwendeten Drucker emittierten demzufolge keine nennenswerten Mengen Ozon, was dem derzeitigen Stand der Technik entspricht. Darüber hinaus ist aus vielen experimentellen Untersuchungen bekannt, dass Ozon erst bei höheren Konzentrationen und ausschließlich bei gegenüber Ruheventilation deutlich erhöhter Minutenventilation messbare funktionelle und entzündliche Effekte auslöst. Aus diesem Grunde ist anzunehmen, dass Ozon keine relevante Rolle bei den Expositionen gespielt hat.



*Abbildung 22: Messung der Ozonkonzentration während des Druckbetriebs.*

Die Reinigung der Raumluft durch die Klimaanlage-Lüftung gewährleistete einen niedrigen Partikeluntergrund vor Expositionsbeginn. Beim Druckauftrag der LE überschritten die Mengen an Nanopartikeln nicht den Untergrundwert der Expositions-kammer (Abbildung 23).

Für beide Expositionsszenarien wurde ein festes Druckprotokoll festgelegt, welches über ein Computerprogramm automatisch ablief. Bei beiden Expositionen folgte auf einen Initialdruck von 100 Seiten die Intervalldruck-Phase. Das Druckintervall betrug 300 Sekunden. High Emitter (HE) 1 druckte dann zwei Seiten, High Emitter (HE) 2 zehn Seiten. Diese Seitenzahlen ermöglichten eine konstante Partikelanzahlkonzentration von durchschnittlich  $9,96 \cdot 10^4$  Partikeln/cm<sup>3</sup>. [130] Low Emitter (LE) 1 und Low Emitter (LE) 2 druckten ebenso jeweils zwei beziehungsweise zehn Seiten.

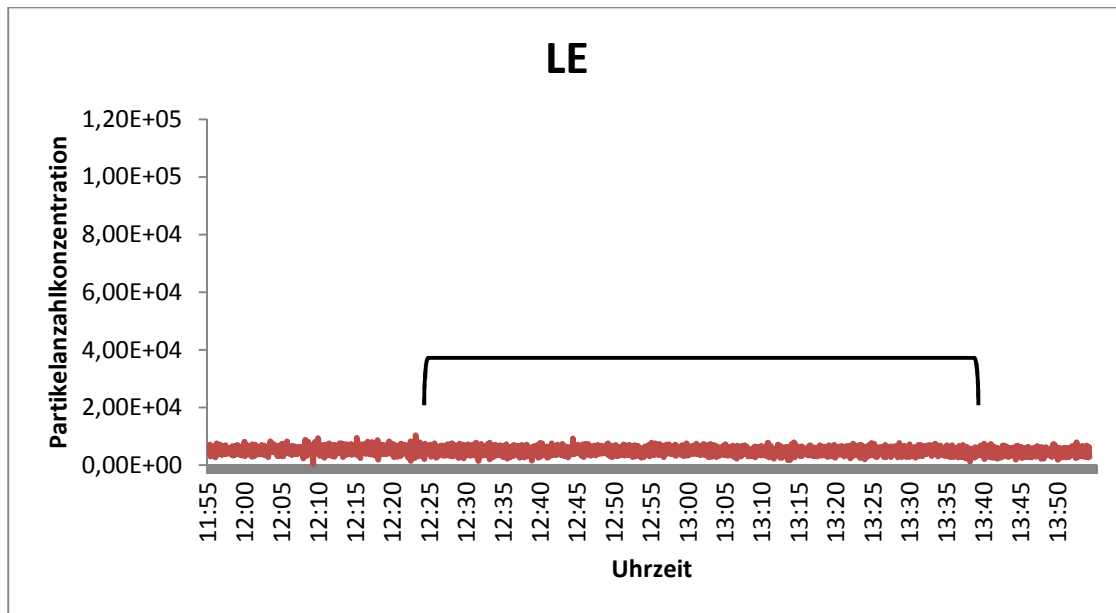


Abbildung 23: Verlauf der Partikelanzahlkonzentrationen [ $1/\text{cm}^3$ ] in der Expositions-kammer während LE-Exposition. Die Klammer kennzeichnet die Betriebsdauer des LE.

Dieser Intervalldruck ermöglichte die Aufrechterhaltung der Partikelanzahlkonzentration über die gesamte HE-Exposition. Wie an den Peaks in Abbildung 24 zu sehen ist, wurden bei Start jedes Druckauftrags vermehrt Partikel ausgestoßen. Nach Ende des Druckbetriebs sanken die Konzentrationen schnell.

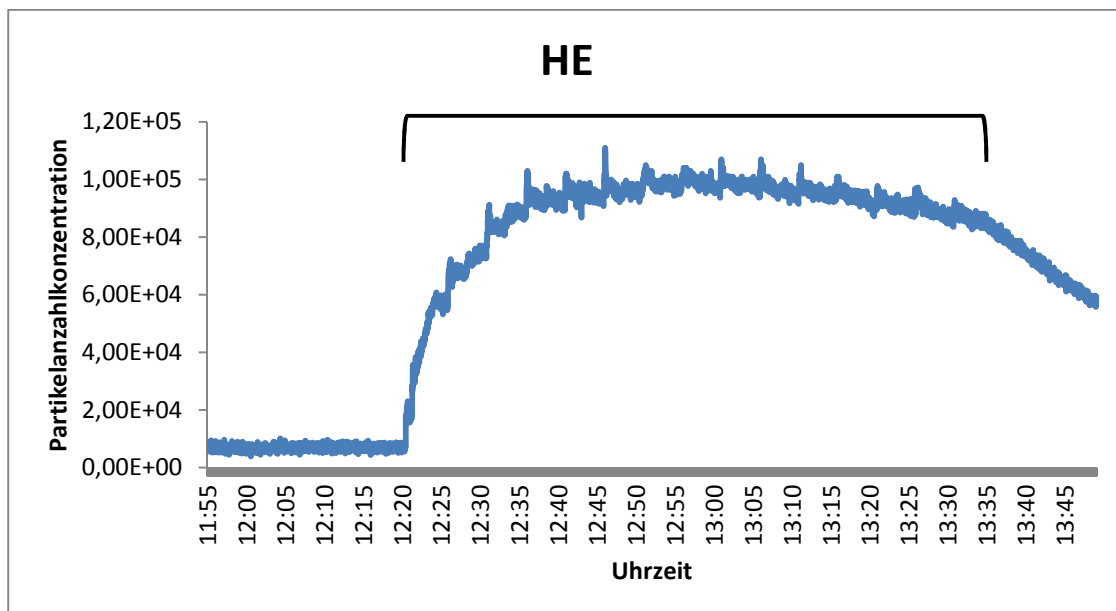


Abbildung 24: Verlauf der Partikelanzahlkonzentrationen [ $1/\text{cm}^3$ ] in der Expositions-kammer während HE-Exposition. Die Klammer kennzeichnet die Betriebsdauer des HE.

Das typische zeitliche Verlaufsmuster der Partikelgrößenverteilung beim HE ist in Abbildung 25 gezeigt. Ein initialer Peak (hier nicht sichtbar) entstand beim Einschalten des Druckers durch auf

den Heizwalzen verbliebene Partikel, die nach Stromzufuhr und damit verbundene Erwärmung verdampfen. Der bananenförmige Anstieg zeigt, dass zunächst kleinere Partikel entstanden. Danach kam es jedoch zu einer Verschiebung in Richtung größerer Partikel. „Dieser Shift ist auf druckerinterne Veränderungen im Aerosolbildungsprozess während des Druckbetriebs zurückzuführen.“ [130]

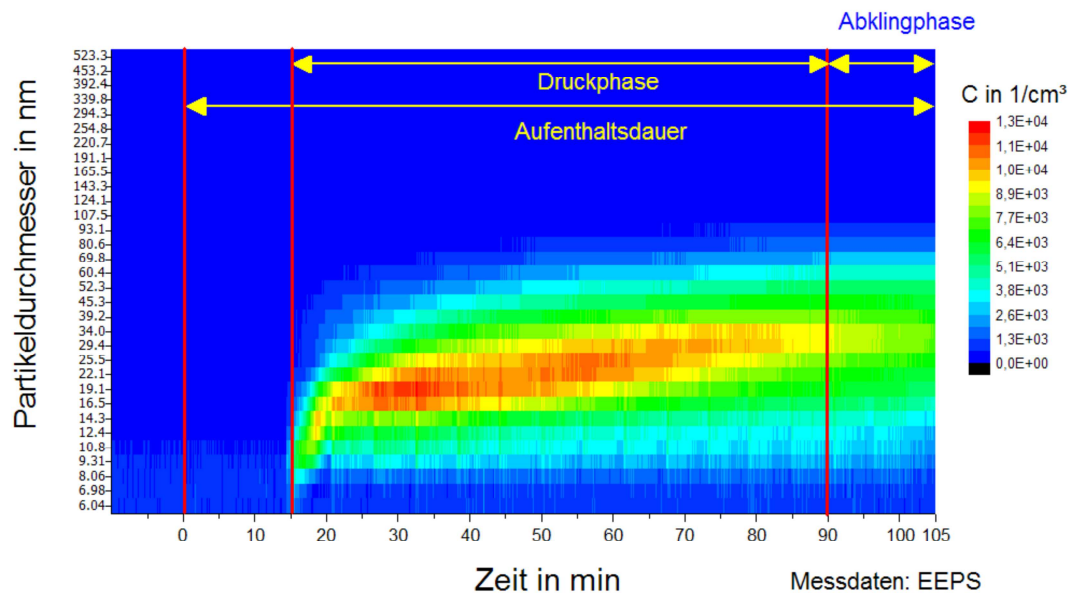


Abbildung 25: Partikelgrößenverteilung <560 nm über die gesamte Aufenthaltsdauer bei einer High Emitter-Exposition.

#### c) Druckmuster

Das Druckmuster nach Vorlage RAL-UZ 122 ist im Anhang dokumentiert. Es entspricht einer Schwärzung von 5%.

#### d) Probandenanweisung

Die Probanden wurden vor dem Beginn des Aufenthalts gebeten, noch einmal zur Toilette zu gehen. Außerdem sollten sie sich nach dem Zwiebelprinzip kleiden, um gegebenenfalls etwas an- oder auszuziehen - je nach persönlichem Empfinden. Für die Bearbeitung der Computeraufgaben sollten die Probanden bei Bedarf ihre Brille mitnehmen.

Die Versuchsperson sollte sich nach Betreten der Expositions-kammer den Bürostuhl am zugewiesenen Platz passend einstellen und sodann mit den Computeraufgaben (Vorher-Tests) beginnen (Abbildung 26). Danach startete das Druckprogramm und der Proband konnte sich mit den zur Verfügung gestellten Büchern beschäftigen. Das Angebot umfasste nur solche Bücher,

die nicht mehr druckfrisch waren (aufgrund eventuellen Geruchs) und die den Probanden nicht zu sehr fesseln oder geistig beanspruchen sollten. Die Literaturliste befindet sich im Anhang.

Nach 50 Minuten wurde der Proband angewiesen, sich im Stuhl zurückzulehnen und für 5 Minuten die Augen zu schließen. Dies diente zur störungsfreien Aufzeichnung der EKG-Ableitungen. Danach konnte sich der Proband noch einmal für 20 Minuten der Lektüre widmen, bis das Druckprogramm beendet war. Sodann wurde er aufgefordert, mit dem zweiten Teil der Computeraufgaben (Nachher-Tests) fortzufahren.

Während des Aufenthalts konnten die Probanden nach Belieben Wasser trinken.

#### **4. Monitoring der Expositionen**

Bei jedem Expositionsdurchgang wurden die Klimadaten (Temperatur, Feuchte, Strömungsgeschwindigkeit), die Partikelanzahlkonzentration sowie die Stromaufnahme der Laserdrucker aufgezeichnet. Das Monitoring fand für den Probanden uneinsehbar außerhalb der Expositionskammer statt.

##### **a) Raumklima**

Mittels eines Almemo-Datenloggers (Almemo 3290-8, Firma Ahlborn, Holzkirchen) und angeschlossener Sonden, die in der Nähe des Kopfes des Probanden auf gleicher Höhe befestigt waren, wurden Temperatur, Luftfeuchte und Strömung gemessen (Abbildung 27). Die Referenzpunkte der Klima- und Partikelmessungen wurden etwa 50 cm links des Probanden festgelegt. Klimasensor und Aerosolentnahmepunkte waren jeweils auf Stativen in einer Höhe von 1,40 m fixiert, was der durchschnittlichen Nasenhöhe des sitzenden Probanden entspricht. Die Referenzpunkte wurden mit einem lateralen Abstand von etwa 10 cm auf gleicher Höhe angeordnet, um Interferenzen zwischen den Messgeräten zu vermeiden. Diese Anordnung ermöglichte zudem die online-Messung der für die Exposition relevanten Daten, ohne die Exposition negativ zu beeinflussen.





*Abbildung 26: Sitzplatz des Probanden; a) Ansaugschlauch für die Nanopartikelmessung; b) Sonden für das Klimamonitoring; c) Messgerät für Partikel im  $\mu\text{m}$ -Bereich (Grimm 1.108).*

Die Daten wurden in Echtzeit auf einen Monitoring-PC außerhalb der Kammer übertragen. So war es auch möglich, vor der Exposition die Raumbedingungen über Modifikation der Klimaanlage noch zu korrigieren. Die Entwicklung der Raumtemperatur und Luftfeuchte ist in Abbildung 27 exemplarisch für Proband GES13 dargestellt. Erkennbar ist, dass die Temperatur im Expositionsraum im Verlauf des Aufenthaltes anstieg, besonders stark bei diesem ausgewählten Probanden. Vor allem die Wärmeproduktion durch den Probanden selbst führte bei jeder Exposition zu einer Erhöhung der Raumtemperatur um insgesamt ca.  $6^{\circ}\text{C}$ , siehe Abbildung 28. Die relative Luftfeuchte hingegen nahm leicht ab. Eine Klimatisierung des Raumes war nicht möglich, da hiermit bei der hohen Luftwechselrate auch die Partikel aus dem Raum gefiltert worden wären.

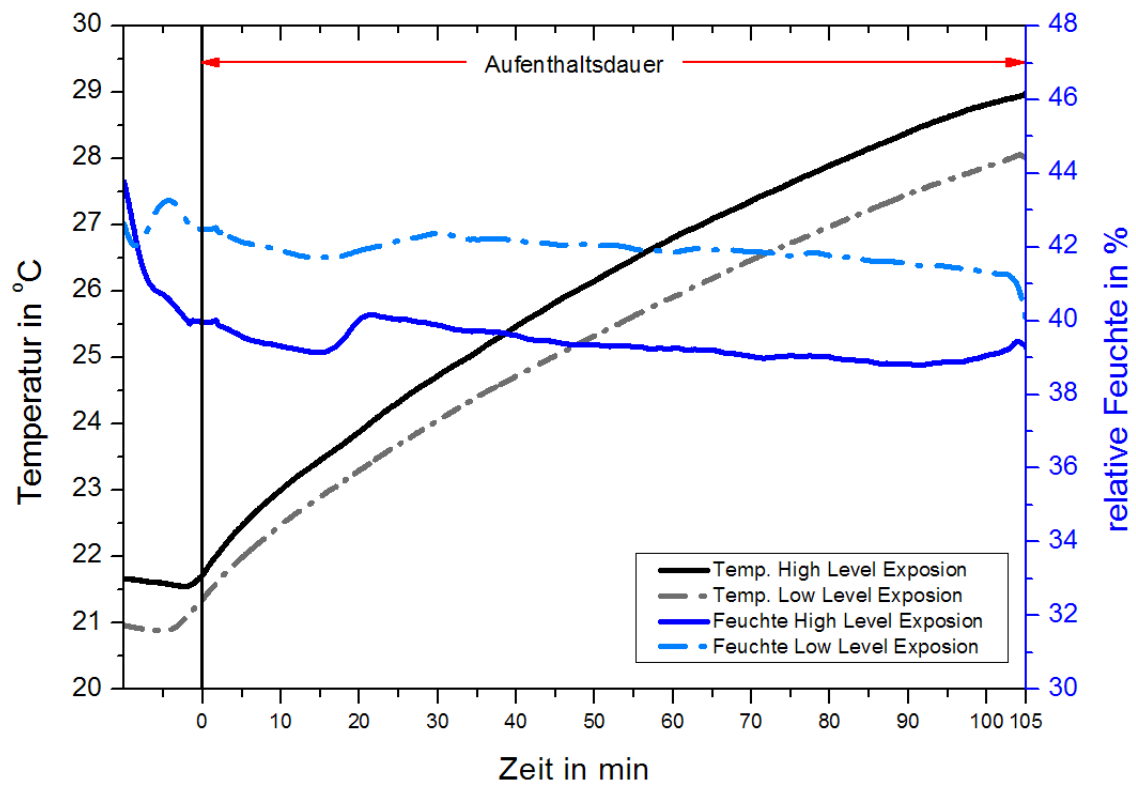


Abbildung 27: Klimabedingungen im Verlauf der Expositionen (Beispiel DKEGES13).[130]

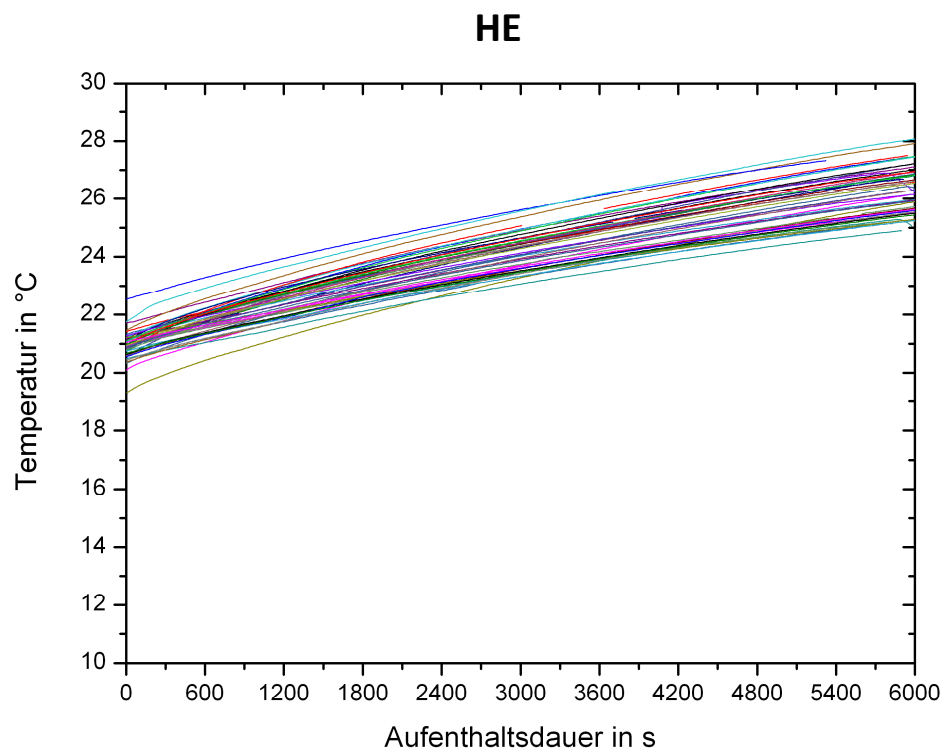
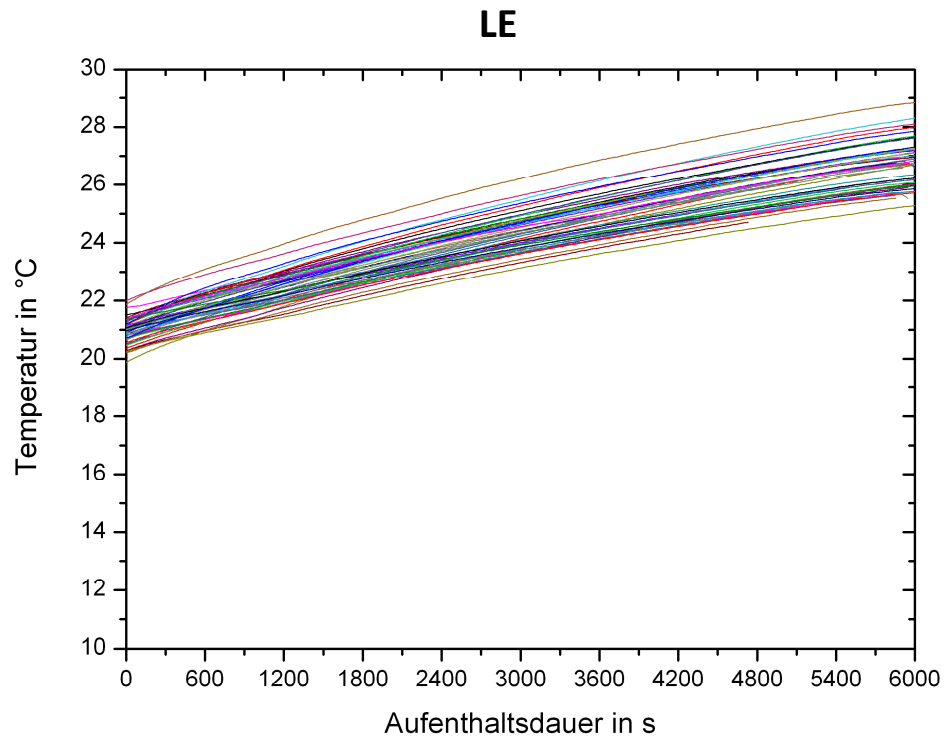


Abbildung 28: Übersicht über den Temperaturverlauf während des Aufenthaltes im Expositionsraum für die einzelnen Probanden. [130]

## b) Druckintervall

Die Laserdrucker wurden vom Probanden nicht einsehbar mit einer speziell entwickelten Software von einem Laptop außerhalb der Kammer gesteuert. Die Druckintervalle wurden anhand der Stromaufnahme der Drucker über den Monitoring-PC überwacht. In Abbildung 29 sind die Stromaufnahme-Zeitkurven im Intervalldruck zu sehen. Die Phase gleichmäßigen Druckens zu Beginn der Exposition diente dazu, rasch die gewünschten Partikelanzahlkonzentrationen in der HE-Exposition zu erreichen.

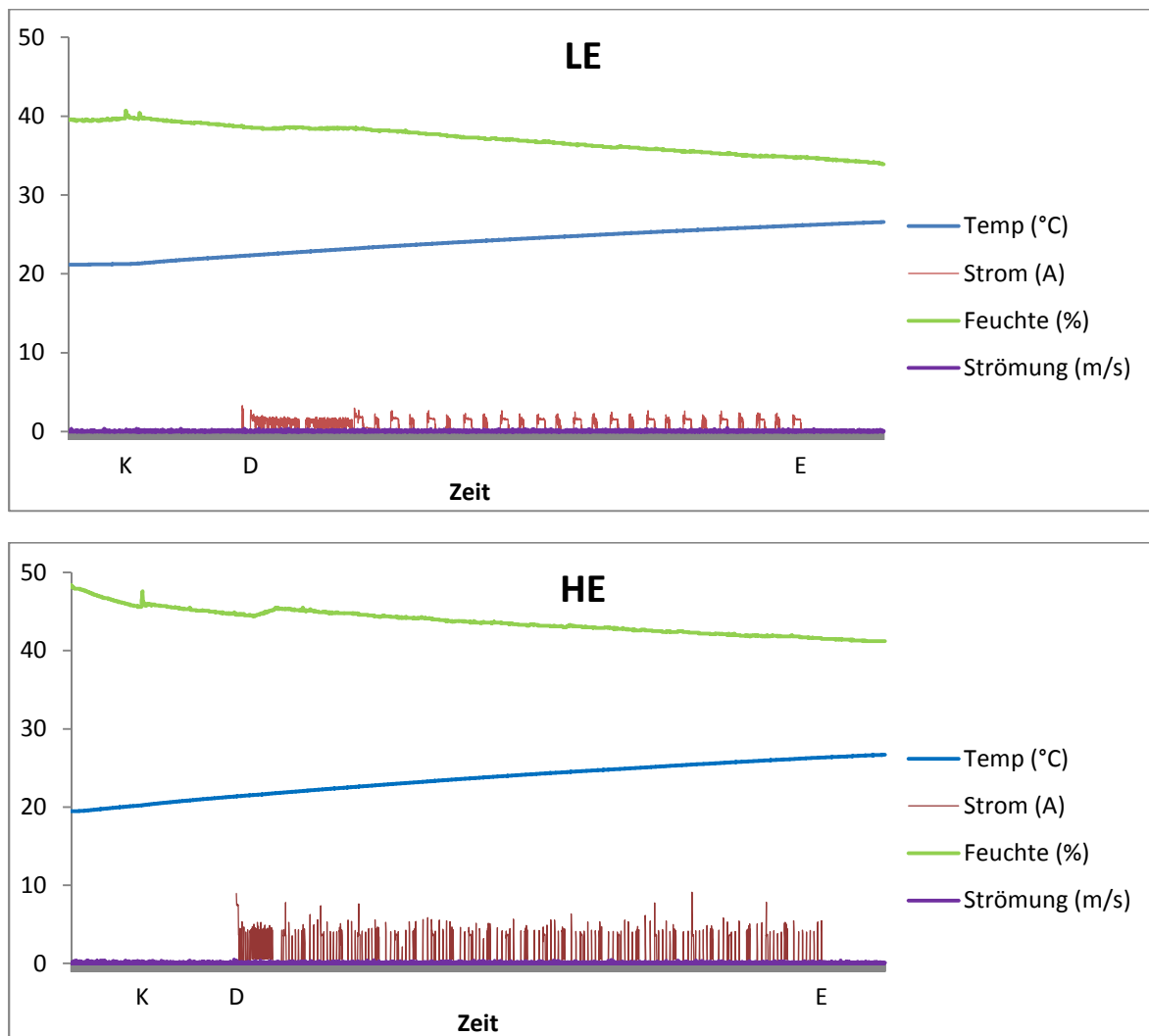


Abbildung 29: Low (LE) und High (HE) Emitter-Expositionen: Klimadaten und Druckintervall am Beispiel der Exposition DKEGES02. **K:** Betreten der Kammer, danach Computertests; **D:** Druckbeginn, **E:** Ende des Druckprogramms.

### c) Partikelemission

Zur Messung der Partikelemissionen während der Expositionen diente ein Engine Exhaust Particle Sizer (EEPS™, TSI Inc., USA). Wegen einer unumgänglichen Gerätewartung wurde zwischendurch kurzfristig ein Fast Mobility Particle Sizer (FMPS™, TSI Inc., USA) desselben Herstellers eingesetzt. Das FMPS beruht auf dem gleichen Meßprinzip und ist technisch nahezu baugleich. Parallelmessungen mit beiden Geräten ergaben im Rahmen der Messfehler übereinstimmende Messwerte.

Mit dem EEPS™ wurden bei jeder Exposition die zeitabhängige Gesamtanzahlkonzentration und die Partikelgrößenverteilung mit einer Zeitauflösung von 1 Spektrum pro Sekunde gemessen. Das nahezu baugleiche FMPS™ wurde als Ersatzgerät und für Kontroll- und Vergleichsmessungen benutzt. Der Partikelgrößenbereich beider Geräte liegt zwischen 5,6 und 560 nm. Aus Vorstudien ist bekannt, dass dieser Messbereich den Größenbereich der von Laserdruckern emittierten Partikel vollständig abdeckt. Beide Geräte sind insbesondere zur Detektion rascher zeitlicher Veränderungen in einem Aerosol geeignet [137]. Das Aerosol wurde durch eine Schlauchleitung aus leitfähigem Silikongummi mit 6 mm Durchmesser und ca. 1,5 m Länge zum Messgerät geleitet. Die Leitungsverluste betrugen für den hier relevanten Größenbereich von 5 nm bis 300 nm ca. 1 % [138].



Abbildung 30: EEPS™ und zugehöriger PC. Der Ansaugschlauch des Gerätes wurde durch die Wand des Expositionsraumes geführt.

Um größere Partikel zu erfassen, befand sich in der Expositions-kammer ein Optical Particle Counter (OPC; Grimm 1.108, Ainring). Er ermöglicht Messung von Partikelgrößenfraktionen ab 300 nm bis 20 µm in 15 Größenklassen. Die Zeitauflösung der Messungen (Scanzeit) beträgt 6 Sekunden. Der OPC kann die anzahlbasierten Messdaten in Partikelmassenkonzentrationen (PM<sub>10</sub> und PM<sub>2,5</sub>) konvertieren [139].

Vor Beginn der Probandenexpositionen wurde die Partikelverteilung an verschiedenen Punkten im Raum mittels eines Scanning Mobility Particle Sizers (SMPS™; TSI 3007, TSI Inc., USA) gemessen. Ein SMPS ist ein Aerosolspektrometer zur hochaufgelösten Bestimmung einer Partikelgrößenverteilung in einem Aerosol im Bereich zwischen ca. 3 und 800 nm. Ein Scan über den gesamten Meßbereich benötigt typischerweise circa 100 Sekunden. Das Gerät wurde in dieser Studie zur Detektion lokaler Unterschiede der Partikelgrößenverteilung in der Expositions-kammer verwendet. Für ein Monitoring der Zeitentwicklung von Partikelanzahlkonzentration und Partikelgrößenverteilung in der Expositions-kammer ist das SMPS aufgrund der geringen Zeitauflösung nur bedingt geeignet.

Alle Klima- und Aerosolmessdaten wurden mit einer von der BAM entwickelten Software analysiert und ausgewertet.

### **III Statistische Auswertung**

Die Auswertung erfolgte mittels des Programms Sigma Plot. Zur Beschreibung der Daten wurden ggf. Mediane, Minimum und Maximum sowie Mittelwerte und Standardabweichungen (SD) verwendet. Vorher-Nachher-Werte wurden nach Testung auf Normalverteilung (Shapiro-Wilk) mittels Wilcoxon-Rangsummentest beziehungsweise paarigem t-Test verglichen. Für die Gruppenvergleiche wurden die Delta-Werte nachher-vorher verwendet. Nach Test auf Normalverteilung (Shapiro-Wilk) und Varianzhomogenität wurden ferner Varianzanalysen nach Kruskal-Wallis oder die Einweg-ANOVA eingesetzt.

Die Auswertung der psychologischen Fragebögen und Computer-Leistungstests erfolgte seitens Frau Priv.Do. Dr. phil. Dipl.-Psych. Britta Herbig mit dem Programm SPSS. Hierbei kamen konventionelle varianzanalytische Methoden zum Einsatz, deren Design jeweils der Darstellung der Ergebnisse zu entnehmen ist.





## **D Ergebnisse**

In dieser Studie fand ein breites Spektrum an Messmethoden Anwendung. Die Auswertung beinhaltete nicht nur Einzelanalysen der Parameter im Vorher-Nachher-Vergleich, sondern auch die Kombination verschiedener Messergebnisse. Die psychologischen Fragebögen und Leistungstests alleine lieferten eine Fülle an Daten, auch wurden von der BAM detaillierte Daten zur Expositionscharakterisierung erhoben. Die Gesamtanalyse dieser Daten ist nicht Bestandteil dieser Arbeit, dennoch werden einige wichtige Ergebnisse beleuchtet. Der Fokus der Darstellung liegt auf den physiologischen Messgrößen.

### **I Rekrutierungserfolg und Kollektivanalyse**

Die Rekrutierung der Probanden gestaltete sich ob der vielen zu beachtenden Merkmale teilweise als schwierig. Bereits nach dem telefonischen Vorgespräch mussten einige Personen wegen Rauchens oder schwerwiegender gesundheitlicher Probleme von der Teilnahme ausgeschlossen werden. Insbesondere in der Gruppe der Betroffenen nahmen viele Personen Kortikosteroid-Präparate ein. In zwei Fällen wurde in Absprache mit den behandelnden Ärzten eine Medikationskarenz binnen drei Wochen vor und während der Teilnahme vereinbart. Voraussetzung hierfür war, dass die Personen trotz Aussetzens der Medikation gesundheitlich stabil waren.

Von den ursprünglich 58 rekrutierten Probanden, die mindestens die Methacholin-Provokation absolviert hatten, kamen 51 Probanden zu allen Studienterminen.

Aus der Gruppe der Betroffenen musste ein Proband seine Teilnahme abbrechen, da über mehrere Wochen gesundheitliche Probleme auftraten, die er zum Teil auf den Druckerkontakt am Arbeitsplatz zurückführte und zum anderen auf Atemwegsinfekten beruhten. Dieser Proband absolvierte lediglich die Voruntersuchung. Ein weiterer Proband brach nach der HE-Exposition die Teilnahme ab, da circa vier Wochen nach der Exposition das „Gefühl eines wachsenden Kloßes im Hals“ aufgetreten war, das den Teilnehmer beunruhigt hatte. Jeweils eine Person aus dieser Gruppe musste wegen erhöhter Werte des ausgeatmeten CO<sub>2</sub>, die auf einen Raucherstatus hinwiesen, beziehungsweise der Einnahme von Kortikosteroiden von der Studie ausgeschlossen werden.

Eine Person konnte wegen nicht eindeutiger Asthma-Diagnose bei Fehlen bronchialer Hyperreagibilität nicht in diese Gruppe aufgenommen werden. Ein Asthma-Patient war zum Zeitpunkt des Methacholin-Tests symptomatisch. Nach der ersten Messung der Lungenfunktion wurde die Untersuchung abgebrochen, da die Voraussetzungen für eine nicht medikamentös oder anderweitig beeinflusste Provokation nicht gegeben waren. Eine Person sagte die Teilnahme aufgrund von Terminproblemen ab. Die Termine der Asthma-Probanden wurden in deren symptomfreie Zeit gelegt, da es sonst zu einer Überlagerung von Effekten hätte kommen

können. Ein noch im Normbereich liegender Wert für  $NO_{bro}$  sowie das Fehlen einer bronchialen Obstruktion wurden gefordert und waren in der Regel auch gegeben.

Am Tag des Methacholin-Tests wurden auch die anthropometrischen Daten erfasst. Eine Zusammenfassung dieser Daten gibt folgende Tabelle:

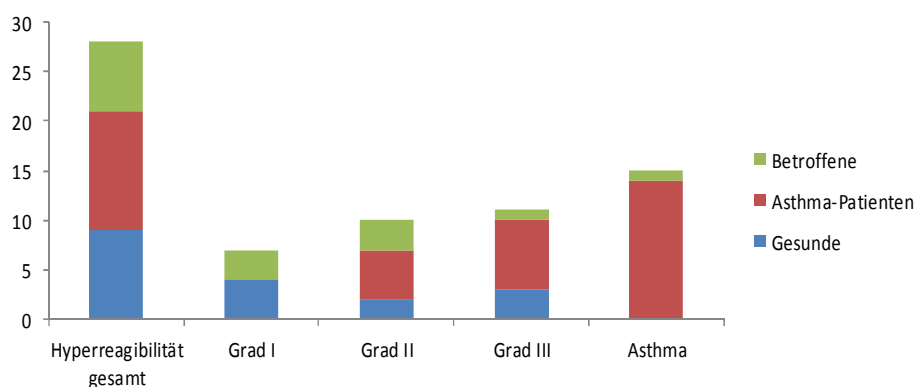
*Tabelle 10: Anthropometrische Daten.*

	<b>Gesunde</b>	<b>Asthma-Patienten</b>	<b>Betroffene</b>
Anzahl (M;W)	23 (12;11 )	14 (5;9)	15 (3;12)
Alter (Jahre)	43,6	35,6	47,6
SD	12,5	11,6	6,8
min;max	20;60	21;57	33;58
Größe (cm)	174,3	169,4	167,5
SD	5,5	9,9	9,8
BMI	25,0	24,6	25,0
SD	3,6	1,8	4,7

Personen aus der Gruppe der Betroffenen waren durchschnittlich älter als die Teilnehmer der anderen Gruppen. Die Rekrutierung dieser Personen erwies sich als langwierige Aufgabe, so dass die Studie mit den Gesunden und Asthma-Patienten begonnen wurde. Erst mehrere Monate nach Studienbeginn hatten ausreichend Betroffene ihre Teilnahme zugesagt. Nun erst war das Altersprofil dieser Gruppe auswertbar, und es wurde klar, dass die angestrebte breite Altersspanne aufgrund mangelnder Anmeldungen nicht erreicht werden konnte.

Der Methacholin-Test lieferte wichtige Ergebnisse zur weiteren Charakterisierung der Probanden (siehe Abbildung 31). Zwei Personen, bei denen seit mehreren Jahren Asthma ärztlich diagnostiziert war und die während dieser Zeit unter vereinzelt Asthma-Anfällen litten, wiesen keine bronchiale Hyperreagibilität auf. Während des Studienzeitraumes wendeten sie keine Bronchodilatoren oder antiinflammatorische Therapie an. Die Ausprägung bronchialer Überempfindlichkeit beim Asthma-Patienten kann bekanntlich saisonal variieren, und sie kann in Einzelfällen auch fehlen [86, 87].

### Hyperreagibilität und Asthma



*Abbildung 31: Vorkommen von bronchialer Hyperreagibilität in den einzelnen Gruppen (absolute Zahlen).*

## II Fragebögen

Alle Ergebnisse der folgenden Abschnitte „Psychologische Fragebögen“ und „Wohlbefinden und Symptomfragebögen“ entstammen der Mitteilung durch Frau Priv. Doz. Dr. phil. Dipl.-Psych. Britta Herbig, die die Daten im Rahmen der Gesamtstudie auswertete. Die Ergebnisdarstellung ist für diesen Bereich anders gestaltet als für die übrigen Abschnitte, indem die in der Psychologie übliche Notation verwendet wurde: +:  $p \leq 0,10$ ; \*:  $p \leq 0,05$ ; \*\*:  $p \leq 0,01$ ; \*\*\*:  $p \leq 0,001$ .

In der vorliegenden Arbeit werden nur die wichtigsten Ergebnisse dieses Parts der Untersuchungen dargestellt. Eine ausführliche Beschreibung findet sich an anderer Stelle. Da es sich um einen in sich geschlossenen Bereich handelt, werden die Ergebnisse auch bereits in diesem Abschnitt diskutiert.

### 1. Psychologische Fragebögen

Die Auswertung des Fragebogens zur Chemischen Geruchssensitivität (CAUS) ergab, dass sich die Asthma-Patienten und die Betroffenen jeweils signifikant ( $p=0,001$ ) von den Gesunden unterschieden. Die höchste Geruchssensitivität wurde bei den Betroffenen beobachtet, wobei hier auch die Streuung am größten war (Abbildung 32, Tabelle 11).

In der positiven Affektivität erreichten die Asthma-Patienten den niedrigsten Wert und unterschieden sich hier statistisch von den Gesunden (Tabelle 11). Im negativen Affekt unterschieden sich Betroffene und Asthma-Patienten deutlich von den Gesunden, wobei Asthma-Patienten den höchsten negativen Affekt aufwiesen. Dies ist ein Phänomen, welches von anderen chronischen Erkrankungen bekannt ist [140].

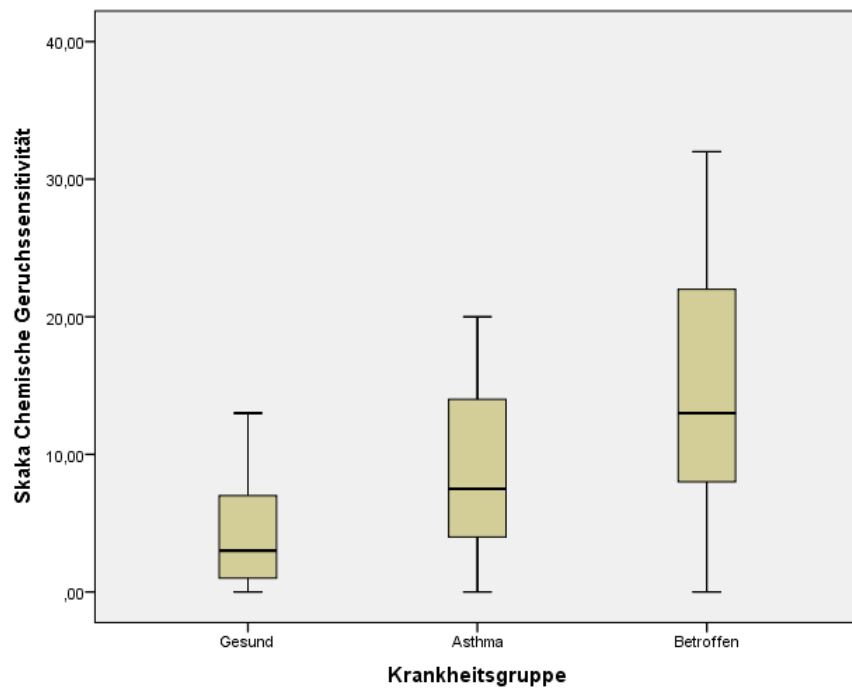


Abbildung 32: Boxplots CAUS. Balken kennzeichnen den Median, Boxen die Streuung. Die Whiskers betragen maximal den 1,5-fachen Interquartilsabstand. Sind keine Ausreißer (o) vorhanden, kennzeichnen sie Minima und Maxima.

Die Überprüfung der Verteilungsvoraussetzungen (Varianzhomogenität nach Levene, Normalverteilung nach Kolmogorov-Smirnov) zeigten, dass Voraussetzungen für die parametrische Testung nur gegeben waren für die Skala „positiver Affekt“. Hier wurden einfaktorielle Varianzanalysen mit post-hoc Scheffé Tests berechnet. CAUS und negativer Affekt erfüllten die Voraussetzungen nicht, daher wurden die Berechnungen hier mit den nicht parametrischen Tests nach Kruskal-Wallis und Mann-Whitney durchgeführt.

Tabelle 11: Übersicht der Ergebnisse (Scores) der psychologischen Fragebögen.

	Gesund, N = 23 (a)		Asthma, N = 14 (b)		Betroffen, N ≤ 15 (c)			
	M	SD	M	SD	M	SD	$\chi^2$ (F)	p
Chemische Geruchs-sensitivität (CAUS)	4,17 <sup>b,c</sup>	3,59	8,79 <sup>a</sup>	6,27	15,00 <sup>a</sup>	9,88	15,08	<b>0,001***</b>
Positiver Affekt (PANAS) <sup>1</sup>	3,08 <sup>b</sup>	0,83	2,12 <sup>a</sup>	0,84	2,49	0,78	6,40	<b>0,003**</b>
Negativer Affekt (PANAS)	2,06 <sup>b,c</sup>	0,93	3,21 <sup>a</sup>	0,75	2,93 <sup>a</sup>	0,81	14,57	<b>0,001***</b>

<sup>a-c</sup> = kennzeichnet signifikante Unterschiede ( $p \leq 0,05$ ) zwischen den Gruppen  
<sup>1</sup> parametrische Testung mit einfaktorieller Varianzanalyse

Um eine Einordnung der Befunde in selbstberichtete Multiple Chemische Sensitivität (sMCS) zu erhalten, schlugen Kiesswetter et al. [127] als stichprobenunabhängiges Kriterium vor, dass mindestens ein Item der CAUS-Skala mit einer maximalen Zustimmung („sehr zutreffend“) beantwortet wurde. Betrachtet man dieses Kriterium für Multiple Chemische Sensitivität im Gruppenvergleich, so wies die Hälfte der Betroffenen (sieben) eine sMCS auf. Nur ein (bzw. zwei) Teilnehmer aus der Gruppe der Gesunden (bzw. der Asthma-Probanden) erfüllten das Kriterium. Somit gibt es offenbar keinen zwingenden Zusammenhang zwischen sMCS und der Empfindlichkeit gegenüber Druckeremissionen.

## 2. Wohlbefinden und Symptomfragebögen

Das Wohlbefinden während des Aufenthalts war unabhängig von der Exposition bei Gesunden und Asthma-Patienten statistisch signifikant höher als bei Betroffenen (Tabelle 12). Die Streuung war in dieser Gruppe am größten (Abbildung 33).

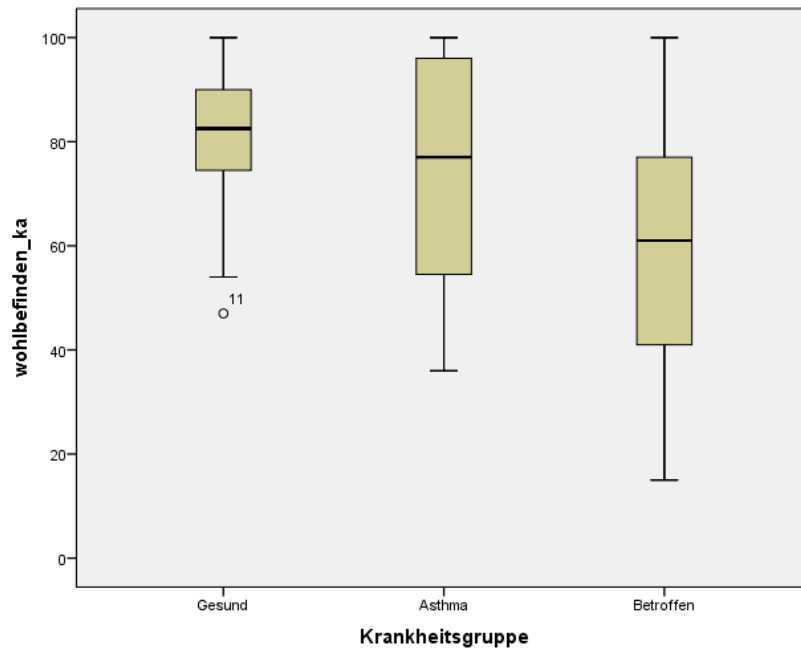


Abbildung 33: Boxplots des Wohlbefindens in der Expositionskammer.

Bezüglich der Geruchswahrnehmung und des Gefühls der Geruchsbelästigung unterschieden sich alle drei Gruppen voneinander (Tabelle 12). Die Betroffenen erzielten die höchsten Werte, gefolgt von der Gruppe der Asthma-Patienten, wobei in beiden letzteren Gruppen die Streuung jeweils sehr hoch war. Insgesamt empfanden die Betroffenen den Aufenthalt in der Kammer also als unangenehmer als die anderen Teilnehmer.

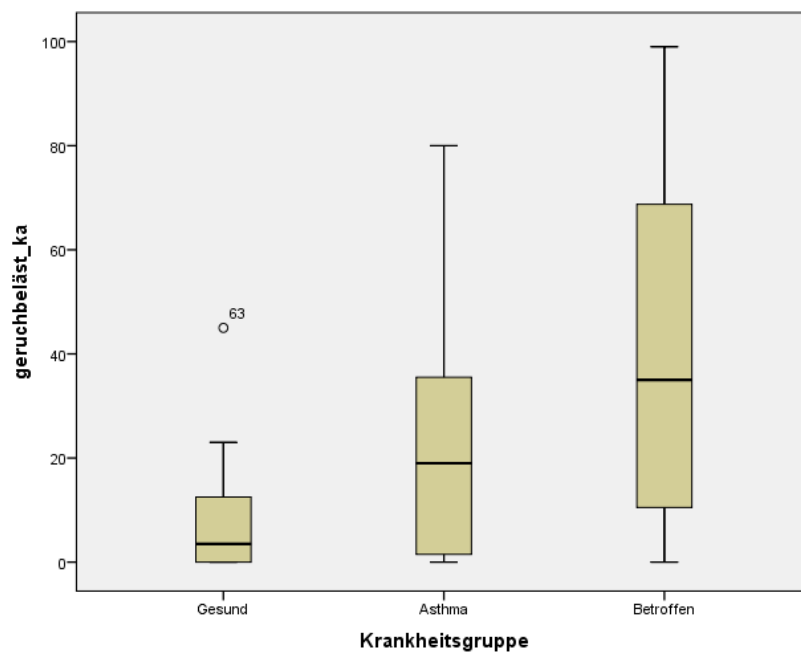


Abbildung 34: Boxplots der Geruchsbelästigung in der Expositionskammer.

Die Überprüfung der Verteilungsvoraussetzungen (Varianzhomogenität nach Levene, Normalverteilung nach Kolmogorov-Smirnov) zeigten gegebene Voraussetzungen für die

parametrische Testung nur für die Skala „Wohlbefinden in der Kammer“. Hier wurden einfaktorielle Varianzanalysen mit post-hoc Scheffé Tests berechnet. Die Skalen zu Geruch und Belästigung durch den Drucker erfüllten die Voraussetzungen nicht, daher erfolgten die Berechnungen hier mit den nicht parametrischen Tests nach Kruskal-Wallis und Mann-Whitney.

*Tabelle 12: Übersicht Wohlbefinden (Scores, beide Expositionen) in der Expositionskammer.*

	Gesund, N ≤ 46 (a)		Asthma, N ≤ 28 (b)		Betroffen, N ≤ 29 (c)			
	M	SD	M	SD	M	SD	$\chi^2$	p
Wohlbefinden in der Kammer <sup>1</sup>	78,80 <sup>c</sup>	19,70	73,44 <sup>c</sup>	20,05	57,90 <sup>a,b</sup>	23,26	9,11	<b>&lt;0,001</b> ***
Stärke des Geruchs in der Kammer	23,52 <sup>b,c</sup>	26,68	36,54 <sup>a</sup>	26,67	50,29 <sup>a</sup>	32,49	15,56	<b>&lt;0,001</b> ***
Geruchsbelästigung in der Kammer	8,60 <sup>b,c</sup>	13,22	19,36 <sup>a,c</sup>	18,66	41,64 <sup>a,b</sup>	33,03	25,77	<b>&lt;0,001</b> ***
Druckbelästigung in der Kammer	18,08	17,38	15,55	18,10	28,50	28,17	2,10	0,351

<sup>a-c</sup> = kennzeichnet signifikante Unterschiede ( $p \leq 0,05$ ) zwischen den Gruppen; <sup>1</sup> parametrische Testung mit einfaktorieller Varianzanalyse.

Die Gruppenvergleiche bezüglich des Auftretens von Symptomen vor den Expositionen zeigten, dass sich die Gesunden und Asthma-Patienten bezüglich des Auftretens von Atemwegs-symptomen und in der Summe aller Symptome unterschieden. Bei den Allgemeinsymptomen bestand ein signifikanter Unterschied zwischen Gesunden und Betroffenen (Abbildung 35).

Kein Parameter erfüllte hier die Verteilungsvoraussetzungen (Varianzhomogenität nach Levene, Normalverteilung nach Kolmogorov-Smirnov), daher wurden die Berechnungen mit den nicht parametrischen Tests nach Kruskal-Wallis und Mann-Whitney durchgeführt.

Tabelle 13: Übersicht der Vorher-Symptome (Scores, beide Expositionen)

	Gesund, N ≤ 46 (a)		Asthma, N ≤ 28 (b)		Betroffen, N ≤ 29 (c)			
	M	SD	M	SD	M	SD	$\chi^2$	p
Atmung vor (Symptomliste)	1,93 <sup>b</sup>	2,19	7,04 <sup>a</sup>	7,88	3,24	3,32	10,51	<b>0,003</b> **
Allgemein vor (Symptomliste)	1,26 <sup>c</sup>	1,37	4,48	7,36	4,86 <sup>a</sup>	6,11	5,77	<b>0,001</b> ***
Haut vor (Symptomliste)	1,00	1,19	4,39	8,53	1,53	2,23	1,06	<b>0,588</b>
Gesamtsymptome vor (Symptomliste)	1,52 <sup>b</sup>	1,42	6,03 <sup>a</sup>	6,17	2,57	2,58	10,18	<b>0,006</b> **

<sup>a-c</sup> = kennzeichnet signifikante Unterschiede ( $p \leq 0,05$ ) zwischen den Gruppen.

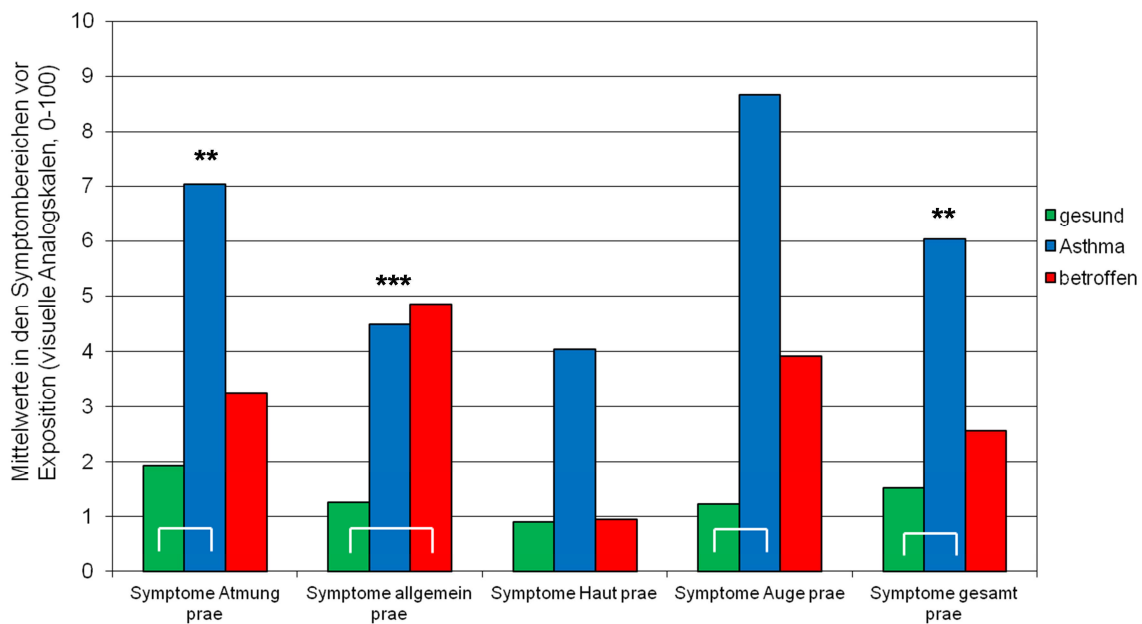


Abbildung 35: Übersicht über die Symptome vor beiden Expositionen im Gruppenvergleich.

Nach beiden Expositionen zeigte sich, dass Asthma-Patienten und Betroffene mehr Symptome aufwiesen als Gesunde (Tabelle 14). Statistisch signifikant war der Unterschied

- zwischen Gesunden und Betroffenen im Bereich Atmung: hier nannten die Betroffenen mehr Symptome;
- bei den Allgemeinsymptomen: Asthma-Patienten wiesen mehr Symptome als Betroffene auf
- zwischen Betroffenen und den anderen beiden Gruppen im Bereich Augen. Siehe Abbildung 36.



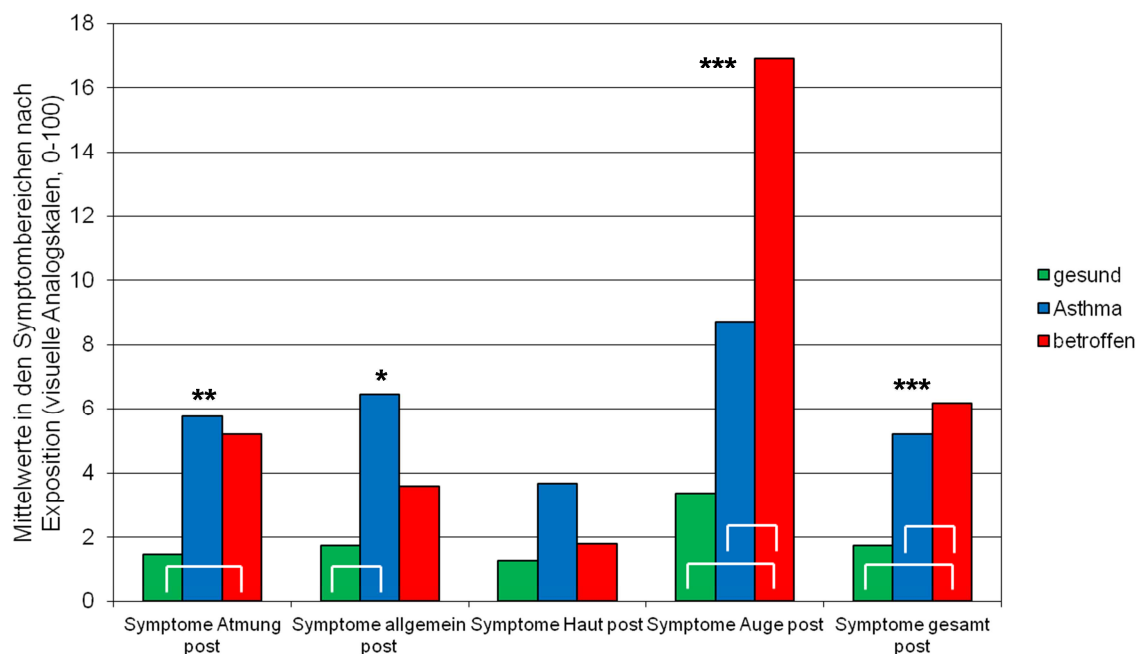
Auch hier erfüllte kein Parameter die Verteilungsvoraussetzungen (Varianzhomogenität nach Levene, Normalverteilung nach Kolmogorov-Smirnov), daher wurden die Berechnungen mit den nicht parametrischen Tests nach Kruskal-Wallis und Mann-Whitney Tests durchgeführt.

Eine Übersicht über die Werte und statistische Signifikanz gibt folgende Tabelle:

*Tabelle 14: Übersicht der Nachher-Symptome (Scores, beide Expositionen):*

	Gesund, N ≤ 46 (a)		Asthma, N ≤ 28 (b)		Betroffen, N ≤ 29 (c)			
	M	SD	M	SD	M	SD	$\chi^2$	p
Atmung nach (Symptomliste)	1,48 <sup>c</sup>	1,38	5,77	9,93	5,22 <sup>a</sup>	6,46	10,58	<b>0,005</b> **
Allgemein nach (Symptomliste)	1,74 <sup>b</sup>	2,06	6,44 <sup>a</sup>	7,25	3,62	5,57	7,33	<b>0,026</b> *
Haut nach (Symptomliste)	1,98 <sup>c</sup>	3,10	5,36	7,62	6,85 <sup>a</sup>	6,32	17,27	<b>0,000</b> ***
Gesamtsymptome nach (Symptomliste)	1,76 <sup>b,c</sup>	1,52	5,21 <sup>a</sup>	6,27	6,17 <sup>a</sup>	5,21	23,03	<b>0,000</b> ***

<sup>a-c</sup> = kennzeichnet signifikante Unterschiede ( $p \leq 0,05$ ) zwischen den Gruppen



*Abbildung 36: Übersicht über die Symptome nach den Expositionen im Gruppenvergleich.*

Betrachtet man die Veränderung der Symptome nach beiden Expositionen ( $\Delta$ ) - unabhängig von HE und LE - so ergaben sich Gruppenunterschiede, die in Abbildung 37 und Tabelle 15 dargestellt sind. Bezüglich der Atmungs- und Gesamtsymptome unterschieden sich alle drei Gruppen.

Während diese Symptome bei den Asthma-Patienten abnahmen, nahmen sie bei den Betroffenen signifikant zu. Bei den Betroffenen kam es außerdem zu einer Zunahme der Allgemein-Symptome, die sich von der in der Gruppe der Gesunden unterschied. Die Betroffenen schilderten unabhängig von der Exposition signifikant mehr Symptome der Augen. Interessanterweise hatten sie bereits am Voruntersuchungstag, als ihre Beschwerden im Umgang mit Laserdruckern erfasst worden waren, häufig Augensymptome angegeben (siehe Charakterisierung der Betroffenen).

Die Verteilungsvoraussetzungen (Varianzhomogenität nach Levene, Normalverteilung nach Kolmogorov-Smirnov) waren nicht erfüllt, so dass die Berechnungen mit den nicht parametrischen Tests nach Kruskal-Wallis und Mann-Whitney durchgeführt wurden.

*Tabelle 15: Übersicht der Veränderungen der Symptome (Scores) in beiden Expositionen.*

	Gesund, N ≤ 46 (a)		Asthma, N ≤ 28 (b)		Betroffen, N ≤ 29 (c)			
	M	SD	M	SD	M	SD	$\chi^2$	p
Veränderung Atmung (Symptomliste)	-0,29 <sup>b,c</sup>	1,67	-2,69 <sup>a,c</sup>	4,84	3,00 <sup>a,b</sup>	6,86	16,03	<b>0,000</b> ***
Veränderung Allgemein (Symptomliste)	0,88 <sup>b,c</sup>	1,98	2,93 <sup>a</sup>	5,47	4,01 <sup>a</sup>	5,76	12,87	<b>0,002</b> **
Veränderung Haut (Symptomliste)	0,98 <sup>b,c</sup>	2,84	-0,21 <sup>a,c</sup>	4,06	4,91 <sup>a,b</sup>	6,83	23,26	<b>&lt;0,001</b> ***
Veränderung Symptome gesamt (Symptomliste)	0,24 <sup>b,c</sup>	1,44	-0,82 <sup>a,c</sup>	2,93	3,61 <sup>a,b</sup>	4,74	25,02	<b>&lt;0,001</b> ***

<sup>a-c</sup> = kennzeichnet signifikante Unterschiede ( $p \leq 0,05$ ) zwischen den Gruppen.

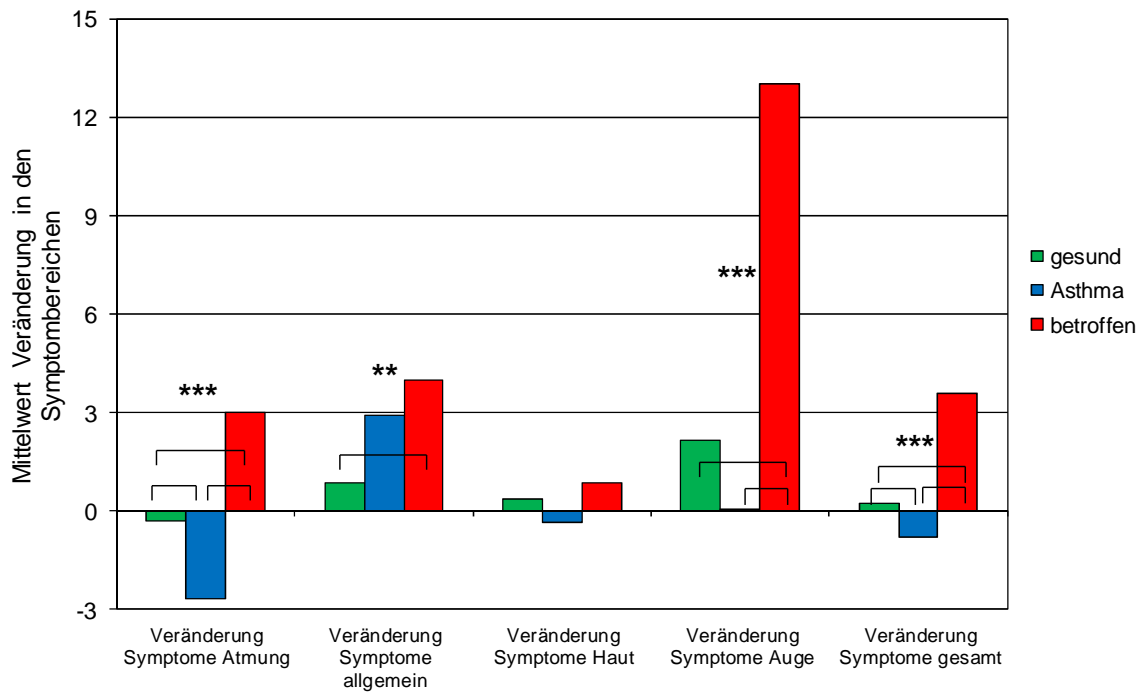


Abbildung 37: Übersicht über die Änderung der Symptome nach den Expositionen im Gruppenvergleich.

Wenn man das Gesamtkollektiv betrachtete, war die Veränderung der Symptome nach Exposition ( $\Delta$ ) zwischen LE und HE nicht signifikant verschieden (Abbildung 40, Tabelle 16).

Die Varianzhomogenität nach Levene war für die Parameter Veränderung Atmung und Veränderung Haut zwar gegeben, kein Parameter erfüllte jedoch das Kriterium der Normalverteilung nach Kolmogorov-Smirnov. Die Berechnungen werden deshalb mit den nicht parametrischen Tests nach Kruskal-Wallis und Mann-Whitney durchgeführt.

Tabelle 16: Übersicht der Symptome (Scores) im Vergleich von HE und LE.

	Low Emitter N = 51		High Emitter N = 52			
	M	SD	M	SD	Z	p
Veränderung Atmung (Symptomliste)	-0,46	5,90	0,42	3,92	-0,85	0,386
Veränderung Allgemein (Symptomliste)	1,64	3,40	2,99	5,38	-1,21	0,229
Veränderung Haut (Symptomliste)	1,30	4,38	2,21	5,53	-0,68	0,501
Veränderung Gesamtsymptome (Symptomliste)	0,39	3,66	1,39	3,36	-1,88	0,060 <sup>+</sup>

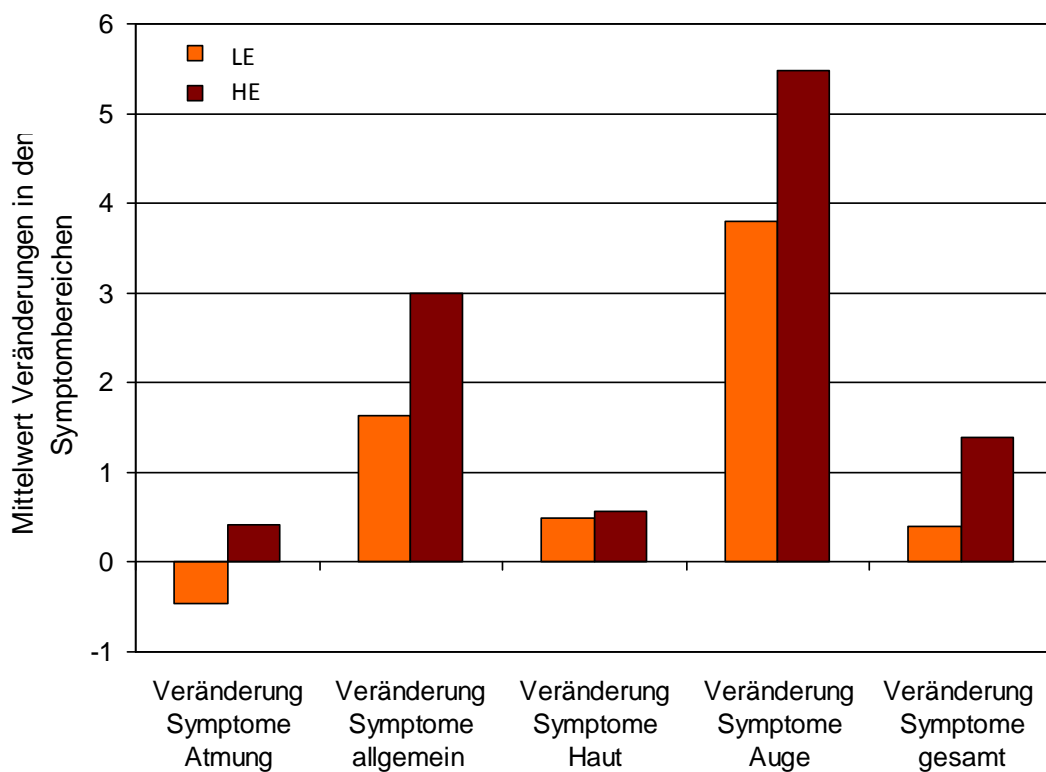


Abbildung 38: Übersicht über die Änderung der Symptome (Scores) nach LE bzw. HE.

Betrachtete man die Gesamtsymptome im Gruppenvergleich, so nahmen diese bei Asthma-Patienten nach LE ab ( $p=0,015$ ) und bei den Betroffenen in beiden Expositionen zu (LE:  $p=0,025$ ; HE:  $p=0,001$ ; Abbildung 41).

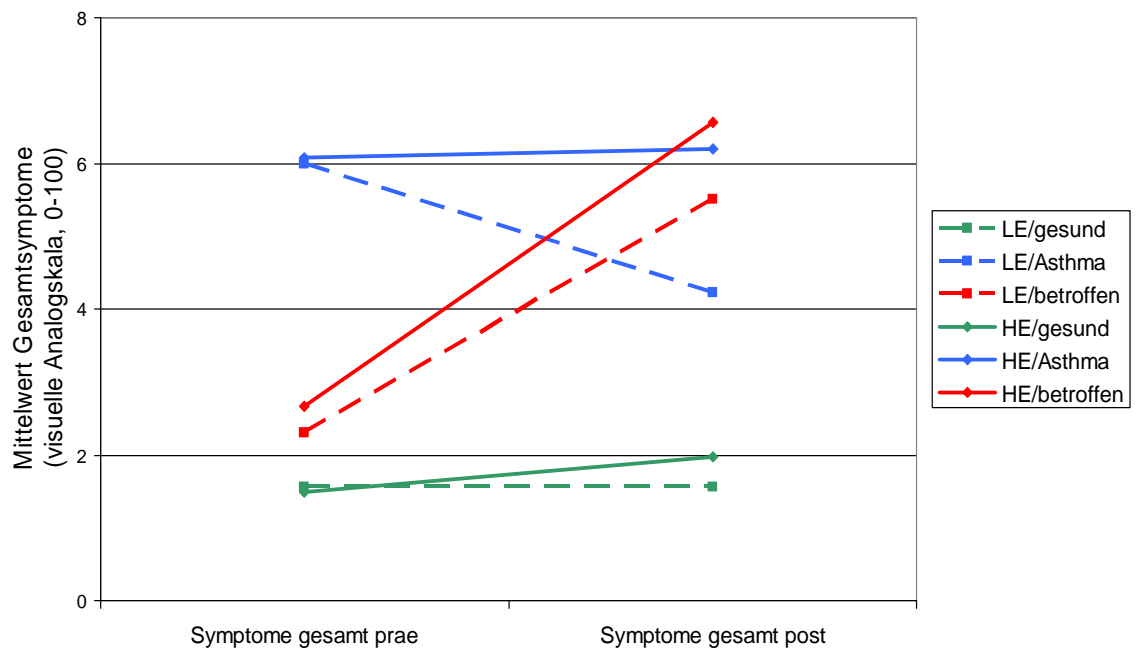


Abbildung 39: Änderung der Gesamtsymptome im Expositionsvergleich in den einzelnen Gruppen.

Betrachtete man die Veränderung der Symptome nach Exposition ( $\Delta$ ), unabhängig von welcher Art diese war, im Vergleich der Probanden mit und ohne BHR, so fand sich ein knapp signifikanter Unterschied im Bereich Atmungssymptome, allerdings nahmen die Symptome in der Gruppe zu, die BHR-negativ war (Tabelle 17).

Die Parameter „Veränderung der Atmungssymptome“ und „Veränderung der Allgemesymptome“ erfüllten zwar die Verteilungsvoraussetzung der Varianzhomogenität nach Levene, die Normalverteilung nach Kolmogorov-Smirnov war jedoch für keinen Parameter gegeben. Daher erfolgten die Berechnungen mit den nicht parametrischen Tests gemäß Kruskal-Wallis und Mann-Whitney.

Tabelle 17: Übersicht Veränderung der Symptome (Scores, beide Expositionen) bei Probanden mit und ohne BHR.

	BHR nicht vorhanden, N ≤ 47		BHR vorhanden N ≤ 56		Z	p
	M	SD	M	SD		
Veränderung Atmung (Symptomliste)	1,31	5,50	-1,13	4,26	-2,03	<b>0,042*</b>
Veränderung Allgemein (Symptomliste)	2,51	5,30	2,16	3,83	-1,42	0,155
Veränderung Haut (Symptomliste)	2,68	5,95	0,99	3,89	-1,61	0,108

<sup>a-c</sup> = kennzeichnet signifikante Unterschiede ( $p \leq 0,05$ ) zwischen den Gruppen.

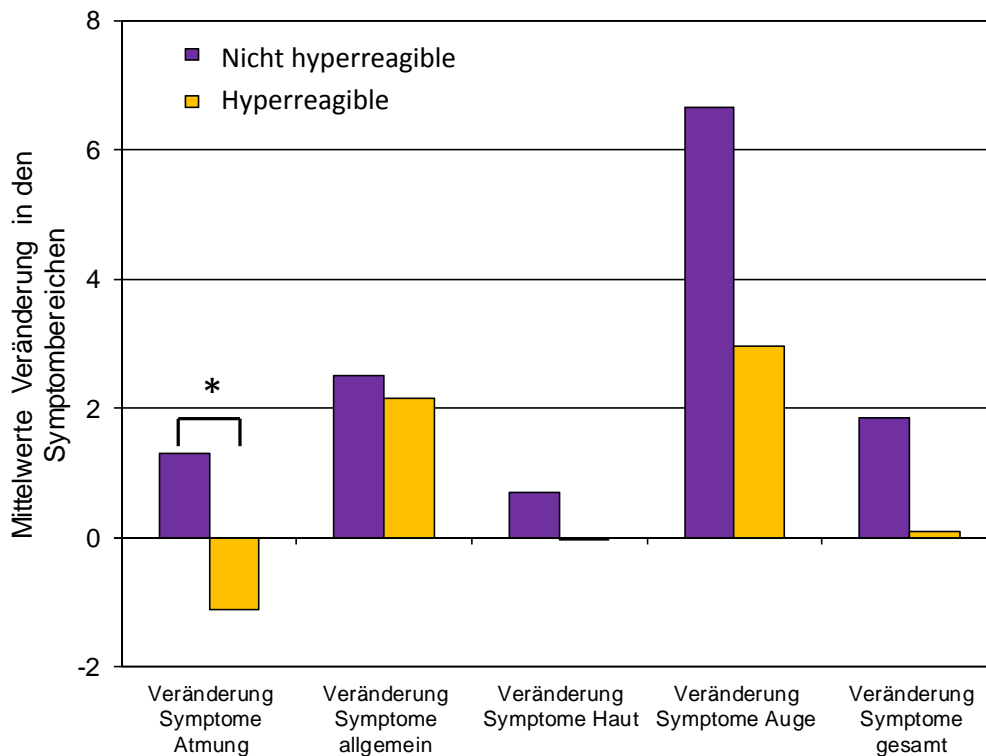


Abbildung 40: Übersicht über die Änderung der Symptome bei nicht hyperreagiblen und hyperreagiblen Probanden.

#### Zusammenfassung der psychologischen Aspekte der Untersuchung

- Hinsichtlich der psychologischen Merkmale Affektivität und chemischer Geruchssensitivität zeigte sich ein durchgängiges Muster: Gesunde zeigten den geringsten negativen Affekt, den höchsten positiven Affekt und die geringste chemische Geruchssensitivität und unterschieden sich damit jeweils signifikant von den Asthmatikern und den Betroffenen. Diese beiden Gruppen unterschieden sich - wie aufgrund des Leidensdrucks zu erwarten - hinsichtlich dieser Merkmale nicht, wobei die chemische Geruchssensitivität in der Gruppe der Betroffenen höher ausgeprägt und in der Hälfte der Fälle als sMCS zu bezeichnen war. Mit der zusätzlichen Einteilung der Gruppen in bronchial (Nicht-)Hyperreagible wurde von Gruppen ohne Leidensdruck, d.h. ohne wahrnehmbare Symptome, ausgegangen. Dies bildete sich deutlich in den Ergebnissen ab; in den psychologischen Merkmalen unterschieden sich hyperreagible und nicht hyperreagible Probanden nicht voneinander.
- Auch mit Blick auf die Wahrnehmung der Situation durch die Teilnehmer sind die Ergebnisse nachvollziehbar: Die Gruppe der Betroffenen zeigte generell die stärksten Reaktionen auf die Expositionssituation. Unabhängig vom Druckertyp wurde von dieser Gruppe das geringste Wohlbefinden in der Expositions-kammer, die stärkste Geruchsbelästigung und die höchste Belästigung durch den Druckvorgang angegeben. Die Stärke des Geruchs wurde von den Betroffenen tendenziell höher beim High Emitter eingeschätzt als beim Low Emitter, die Bewertung war aber auch insgesamt

höher als in den beiden anderen Gruppen. Da sich die Betroffenen im Gegensatz zu den anderen Probanden einer Situation stellen mussten, von der sie eine krankmachende Wirkung annahmen, sind diese Effekte psychologisch gut nachvollziehbar. Dieser psychologische Effekt wird dadurch untermauert, dass bei der Zusatzbetrachtung der Gruppen mit und ohne bronchiale Hyperreagibilität keine signifikanten Unterschiede in der Situationswahrnehmung auftraten.

- Die subjektiven Symptome wurden jeweils vor und nach der Exposition für verschiedene Bereiche erfasst. Die Einschätzungen der Teilnehmer wurden sehr genau auf einer 100 mm langen visuellen Analogskala erfasst. Es ist zunächst festzuhalten, dass sich alle aufgefundenen Effekte auf einem sehr geringen Wertenniveau abspielten, d.h. die Ausprägungen der von den Teilnehmern berichteten Symptome waren so gering, dass kaum von einer klinischen Relevanz ausgegangen werden kann. Vor dem Hintergrund dieser hohen Messgenauigkeit fand sich über alle Symptomgruppen und alle Probandengruppen hinweg tendenziell eine höhere Zunahme der Symptome nach der HE-Exposition als nach LE-Exposition, die jedoch wesentlich bestimmt wurde durch eine sehr deutliche Zunahme der berichteten Augensymptome bei den Betroffenen.
- Jenseits dieses summarischen Befundes gab es so gut wie keine Hinweise auf differenzielle Effekte der beiden Expositionen, d.h. die subjektiv wahrgenommenen Symptome hingen nicht mit der Höhe der Druckeremission zusammen. Im Allgemeinen waren die höchstens Anstiege der Symptome durch die Exposition in der Betroffenenengruppe zu finden, dabei war es jedoch unerheblich, ob es sich bei der Exposition um einen Low oder einen High Emitter handelte. Das heißt, für diese Gruppe hatte die reine Expositionssituation einen Effekt, ohne dass die Emissionsstärke eine Rolle spielte.

### **3. Vorerkrankungen und Rauchen**

Die Befragung zu Vorerkrankungen bezog sämtliche Organsysteme mit ein. Nachfolgende Abbildung gibt einen Überblick über die genannten Erkrankungen. Eine aktuelle Asthma-Erkrankung ist in dieser Abbildung nicht noch einmal dargestellt. Siehe hierzu Abbildung 31.

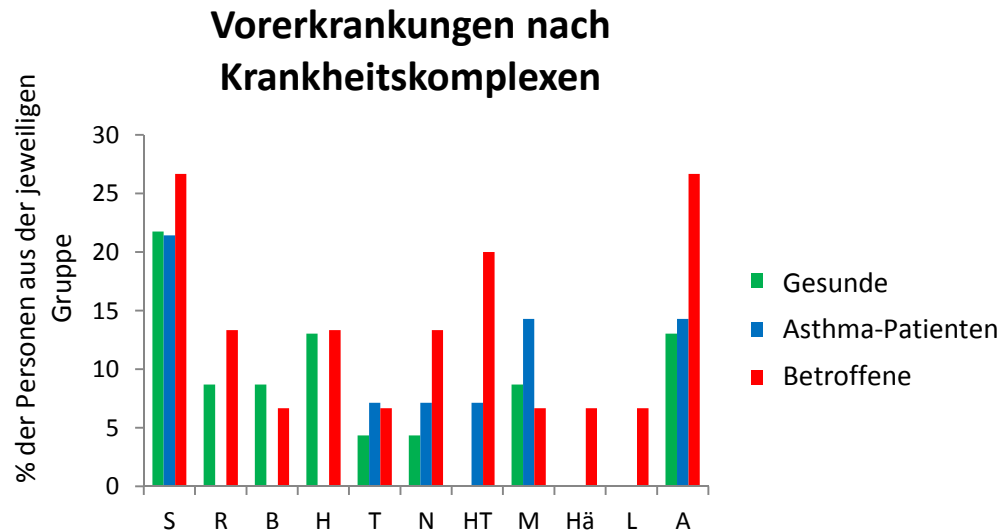


Abbildung 41: Übersicht der genannten Vorerkrankungen in % der Gruppenteilnehmer; S: Skeletterkrankung; R: Herzrhythmusstörungen, EKG-Veränderungen; B: Hypertonie; H: Hauterkrankung; T: überstandene Tumorerkrankung; N: Nasennebenhöhlenerkrankung; HT: Hypothyreose; M: Migräne; Hä: hämatologische Erkrankung; L: Lungenerkrankung (ohne Asthma); A: Andere

Im Gruppenvergleich (Abbildung 41) nannten die Betroffenen die meisten Erkrankungen, gefolgt von der Gruppe der Gesunden. Die Asthma-Patienten litten im Vergleich am häufigsten unter Allergien (Abbildung 42).

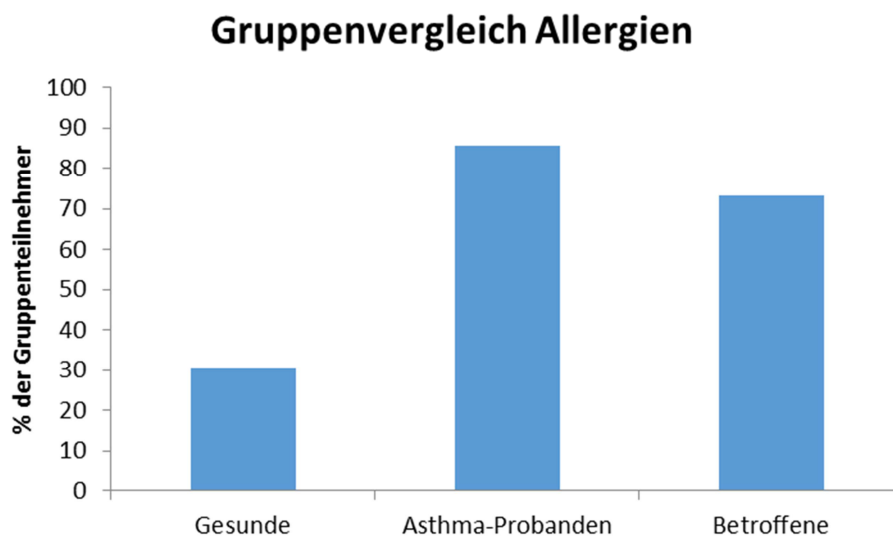


Abbildung 42: Vorhandensein von Allergien (ohne separate Zählung einzelner Allergiemaniestationen), dargestellt als Anteil an der jeweiligen Gruppe.

Es wurden nur Personen in die Studie aufgenommen, die Nichtraucher waren. Viele Probanden hatten im Laufe des Lebens jedoch bereits geraucht. Teilnehmer aus der Gruppe der Gesunden hatten im Mittel am längsten ( $18,2 \pm 12,6$  Jahre) und die meisten Zigaretten pro Tag ( $18,3 \pm 12,7$ ) konsumiert. Kein Proband hatte jemals regelmäßig Zigarren oder Pfeife geraucht. Ein Proband



aus der Gruppe der Asthma-Patienten hatte 10 Jahre lang Marihuana geraucht. Um auch Passivrauchen zu erfassen, wurden die Probanden zum Rauchverhalten in ihrem Umfeld befragt. Nur einzelne Personen aus allen Gruppen gaben an, dass in ihrem Umfeld geraucht wurde. Eine Übersicht bietet Abbildung 43.

Die Kontrolle des Nichtraucherstatus erfolgte bei jedem Termin mithilfe des ausgeatmeten CO (siehe Methodenteil). Cotinin, ein Abbauprodukt des Nikotins, das in Urin und Blut nachgewiesen werden kann, wurde nicht zusätzlich bestimmt, da mittels COe Raucher und Nichtraucher ausreichend genau unterschieden werden können [141].

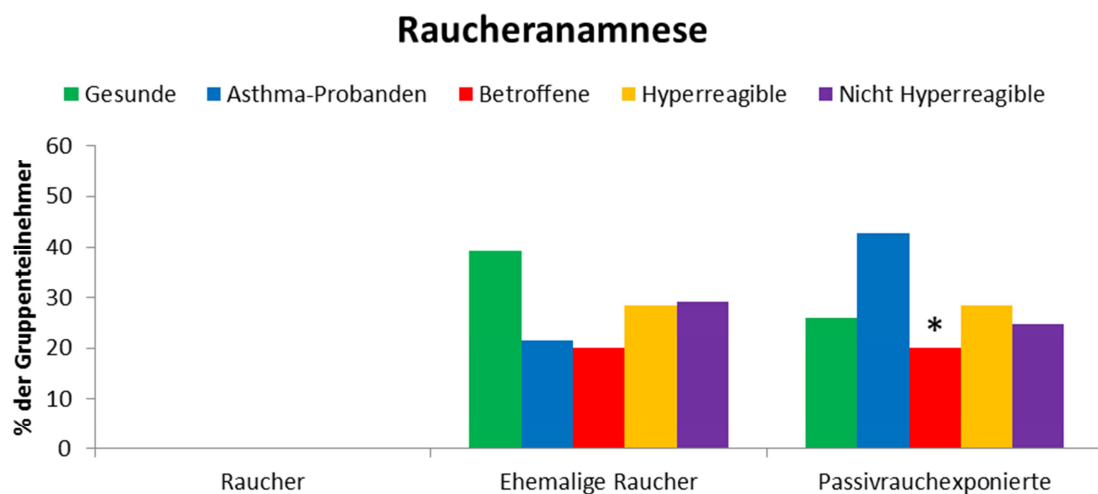


Abbildung 43: Raucheranamnese der verschiedenen Probandengruppen. \*: der Partner eines Teilnehmers aus der Gruppe der Betroffenen rauchte E-Zigarette.

#### 4. Bisherige Druckerexposition

Die Auswertung der Druckerfragebögen ergab, dass die Asthma-Probanden im Mittel die geringste Zahl an Jahren in der Exposition gegenüber LDS aufwiesen (Tabelle 18); Die Probanden dieser Gruppe waren im Mittel auch am jüngsten. Die Gesunden befanden sich aktuell über die längste Zeit in der entsprechenden Expositionssituation. Die Betroffenen hingegen waren aktuell weniger ausgesetzt, gaben jedoch im Mittel eine längere vorherige Exposition gegenüber LDS an als die Gesunden; allerdings waren sie auch älter.

*Tabelle 18: Übersicht zum Druckerkontakt der Probanden.*

	n	Alter (MW)	Aktuell kein LDS		LDS aktuell seit [J] (MW)*	Tage/Woche aktuell (MW)*	Seiten/Tag aktuell (MW)*	LDS früher [J] (MW)	LDS insgesamt seit [J] (MW)
			Nie [n]	Früher LDS [n]					
GES	23	43,6	3	3	7,9	4,6	474	7,8	10,2
AST	14	35,6	1	1	4,9	4,4	432	2,9	5,9
BET	15	47,6	0	2	5,5	4,7	370	9,9	11,6
HYP	28	40,8	1	4	6,2	4,7	304	7,2	9,5
NHYP	24	44,7	3	2	6,3	4,5	582	7,6	9,4

*J: Jahre; MW: Mittelwert; \*Angaben für die an erster Stelle genannte Situation.*

## 5. Charakterisierung der Betroffenen

Die Teilnehmer aus der Gruppe der Betroffenen stammten aus unterschiedlichen Berufsgruppen. Es handelte sich um neun Büroangestellte, von denen vier im öffentlichen Dienst beschäftigt waren. Daneben nahmen drei Ingenieure und jeweils eine Person aus dem Gesundheitswesen, dem Bankwesen und dem öffentlichen Sicherheitswesen teil.

Die im Vorfeld geschilderten Beschwerden waren bezüglich Art und Auftreten sehr unterschiedlich (Abbildung 44). Die Teilnehmer wurden gebeten, die Symptome nach Häufigkeit des Auftretens zu nennen. Ein Betroffener konnte die Beschwerden nicht in zeitlichen Zusammenhang mit der Benutzung von Laserdruckern bringen, schilderte allerdings einen zunehmenden Konditionsverlust bei körperlicher Betätigung zusammen mit dem Auftreten von Druck unter dem Brustbein.

Vier Personen nannten Kopfschmerz als vorrangiges Symptom, bei insgesamt sechs Personen war Kopfschmerz unter den geschilderten Symptomen. Fünf Personen litten nach Benutzung der Geräte unter Abgeschlagenheit, Müdigkeit oder Konzentrationsschwierigkeiten. Von acht Betroffenen wurde ein Symptom des oberen Atmungstraktes wie Niesen, Nasenlaufen, trockene Nasenschleimhaut, Kratzen oder Kloß im Hals bis hin zu Halsschmerzen genannt. Ebenso acht Betroffene schilderten Symptome des unteren Atmungstraktes wie Atemnot, Husten oder Brennen in den Atemwegen. Am häufigsten (9 Personen) wurden Symptome der Augen wie Tränen, Jucken und Rötung angegeben. Daneben traten auch Symptome wie Schwindel, Herzrasen, Verschwommensehen und metallischer, bzw. seifiger Geschmack im Mund auf. Bei fast allen Betroffenen traten die Symptome in einem Zeitraum von einigen Minuten bis wenigen Stunden nach Drucktätigkeit auf. Die Zeit bis zum Abklingen der Symptome war bei 14 von 42 genannten Symptomkomplexen variabel.

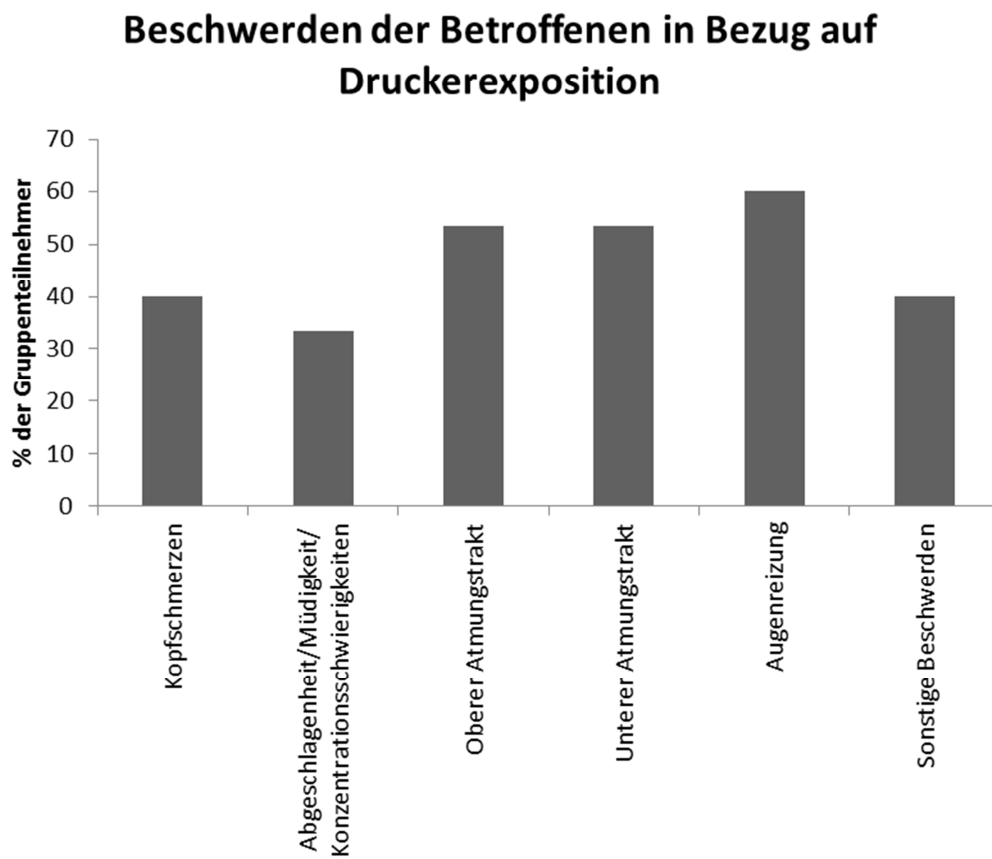


Abbildung 44: Selbstberichtete Beschwerden der Betroffenen; prozentualer Anteil der Gruppenteilnehmer; Mehrfachnennungen waren häufig.



### III Klinische Parameter

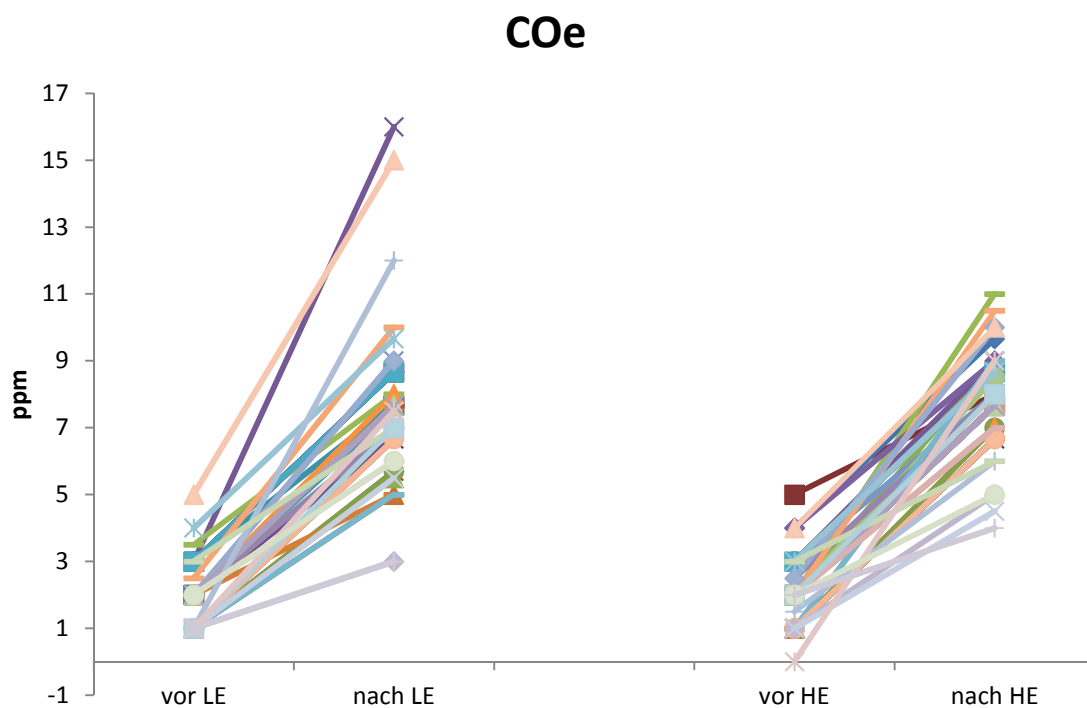
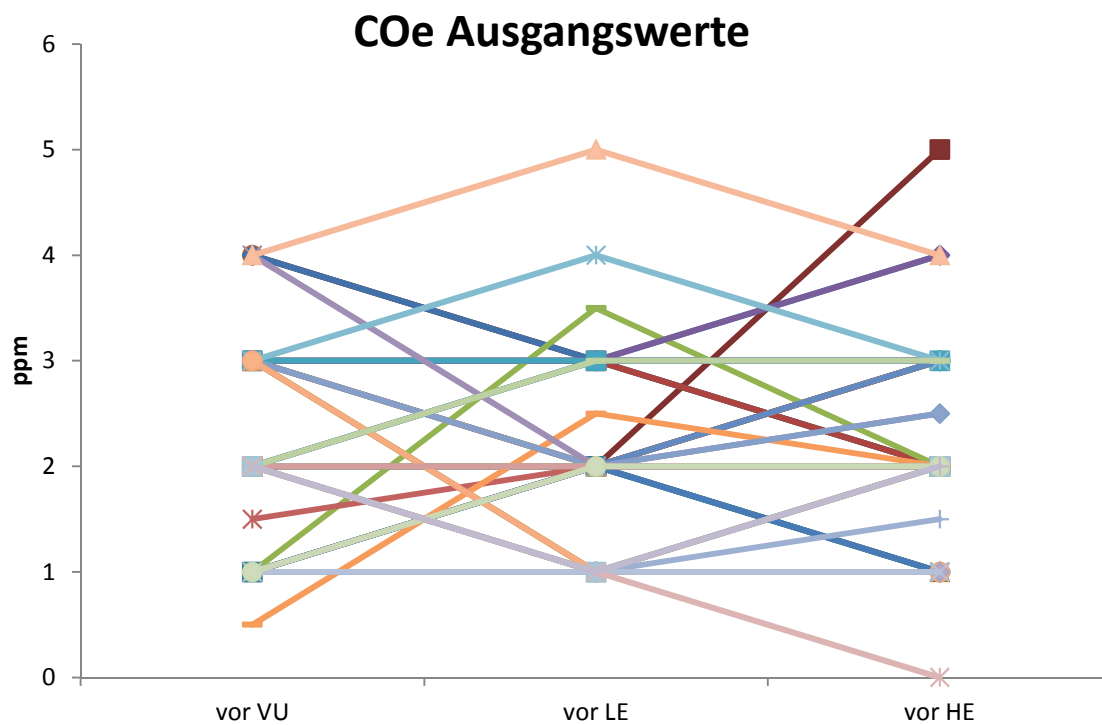
Während der Studie stellte sich heraus, dass die Untersuchungstage eine unterschiedliche Dauer aufwiesen. Dies war vor allem auf die unterschiedliche Schleimhautfeuchte der Nase zurückzuführen. Die Probanden benötigten daher für die Sammlung der erforderlichen Menge an Nasensekret zwischen einem und sechs Durchgängen Watte-Einlage in die Nase, von denen jeder 15 Minuten dauerte. Zudem kam es gelegentlich zu technischen Verzögerungen. Daher wurde bei den letzten 23 Probanden vor den Nachher-Messungen eine erneute Kalibration des Bodyplethysmographen und des Diffusions-Messgerätes durchgeführt, um möglichen Raumklima-Änderungen im Tagesverlauf Rechnung zu tragen. Für die Aufbereitung des Atemkondensats wurden ferner auch die  $\text{H}_2\text{O}_2$ -Standards bei diesen Probanden frisch angesetzt statt sie bis zur Aufbereitung der Nachher-Proben im Kühlschrank zu lagern. Auf jeder Mikrowell-Platte wurde Laborwasser als Vergleichswert mit angesetzt, um die Standardkonzentration zu überprüfen.

Die folgenden Grafiken beziehen immer alle Probanden mit ein, wenn nicht anders angegeben. Statistisch hochsignifikante Änderungen ( $p < 0,001$ ) über das Gesamtkollektiv sind mit \*\* gekennzeichnet; Im konventionellen Sinn signifikante Änderungen ( $p > 0,05$ ) sind mit \* markiert. Die verwendeten Tests waren im Allgemeinen der Wilcoxon-Test für paarige Vergleiche (Vorzeichenrangtest, vor versus nach Exposition, oder Ausgangswerte gegeneinander) und gegebenenfalls der Mann-Whitney-U-Test für Gruppenvergleiche.

#### 1. Exhalierete Parameter

##### a) CO

Bei 24 (LE) bzw. 26 (HE) Probanden wurde ein Nachher-Wert für CO<sub>e</sub> erhoben. Für die übrigen Termine bzw. Probanden wurde die erwartete Änderung des CO-Wertes aus diesen Daten geschätzt; dies trug auch zur Zeitersparnis bei. Hierfür wurde ein Mittelwert der CO<sub>e</sub>-Änderung der gemessenen Probanden gebildet und zum Vorher-Wert der nicht gemessenen hinzuaddiert. Dies erschien angesichts der im Allgemeinen relativ geringen Streuung der Änderungen und der Kleinheit der CO-Korrektur von DLCO ein valides Vorgehen. Die Ausgangswerte der einzelnen Probanden lagen bei den drei Terminen auf ähnlichem Niveau im Bereich der für Nichtraucher typischen Werte (Abbildung 45). Da die Probanden am Diffusionsmessgerät CO einatmeten, waren die Nachher-Werte für CO<sub>e</sub> zwangsläufig erhöht (Abbildung 46). Ein statistischer Test hierfür erschien nicht sinnvoll, da der Effekt klar und zu erwarten war.



## b) NO

Bei  $\text{NO}_{\text{bro}}$  und  $\text{NO}_{\text{alv}}$  kam es weder über alle Probanden gemittelt noch in Einzelgruppen zu statistisch signifikanten Änderungen, weder über beide Expositionen gemittelt noch getrennt nach HE und LE. Im Gruppenvergleich zeigten sich ebenfalls keine Unterschiede der Ausgangs- oder Endwerte. Die detaillierten Ergebnisse und p-Werte der statistischen Auswertung finden sich für das exhalierete NO wie für andere Messgrößen im Tabellenteil (Tabellen 15-17).

Wie in Abbildung 47 zu sehen ist, lagen die mittels des mathematischen Modells mittels drei Ausatemraten abgeschätzten Werte für  $\text{NO}_{\text{alv}}$  stets im einstelligen ppb-Bereich und schwankten relativ stark. Die durch die direkte Messung bei einer Flussrate von 50mL/s ermittelten Werte von  $\text{NO}_{\text{bro}}$  waren vergleichsweise stabil.

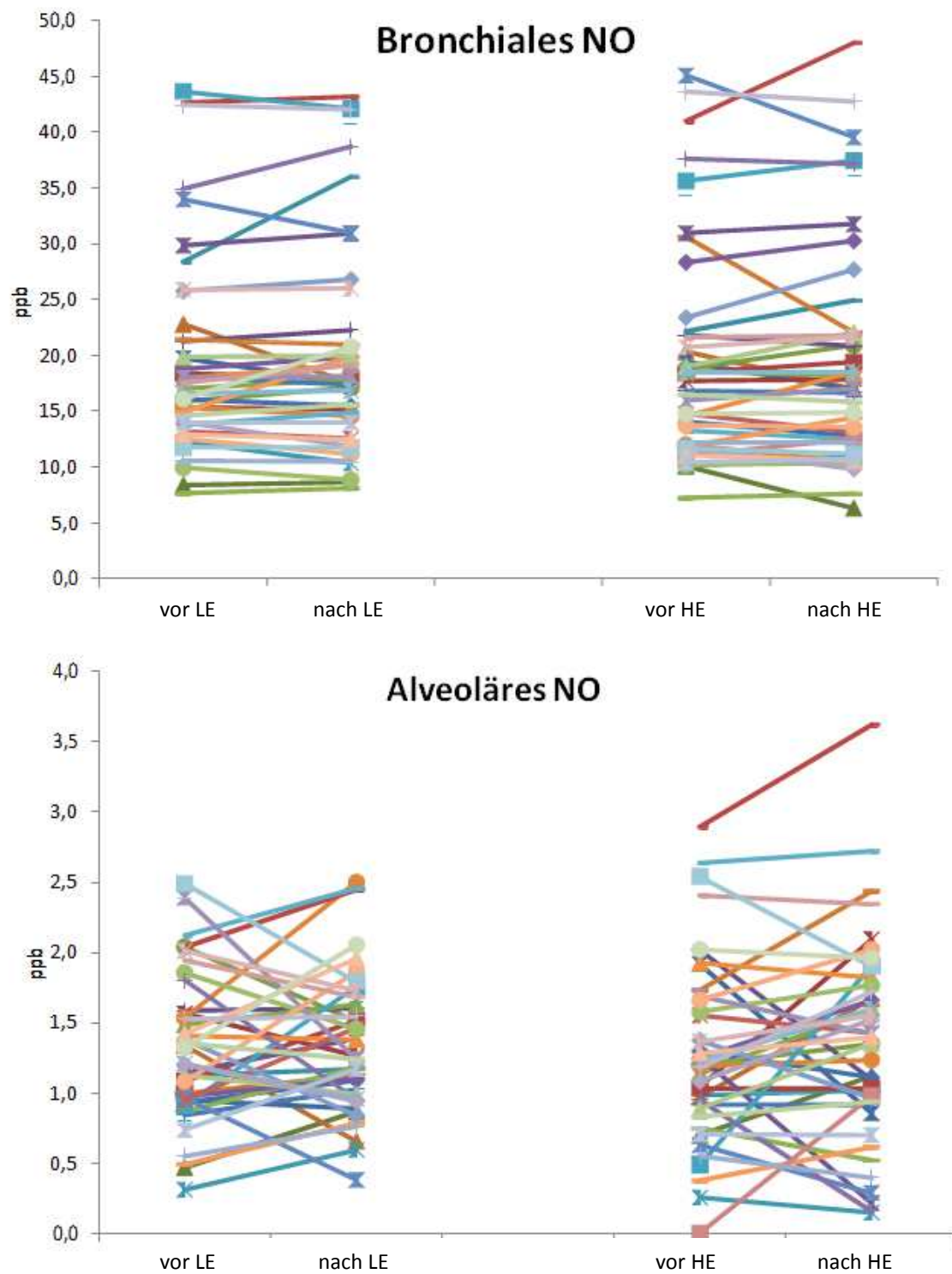


Abbildung 47: Vorher-Nachher-Vergleich von  $NO_{alv}$  und  $NO_{bro}$  der LE- und HE-Visite.



## 2. Spirometrie und Bodyplethysmographie

Das Hauptaugenmerk lag auf den Parametern  $FEV_1$  (Abbildung 48), FVC (Abbildung 49), ITGV (Abbildung 50) und den Atemwegswiderständen.

Lediglich bei  $sR_{tot}$  zeigte sich bei den Gesunden nach HE-Exposition ein grenzwertig signifikanter ( $p < 0,05$ ) Anstieg des spezifischen Atemwegswiderstandes um  $0,06 \text{ kPa} \cdot \text{s}$  (Abbildung 51). Die Gesunden wiesen die niedrigsten Ausgangswerte auf (Abbildung 52) und unterschieden sich in den Ausgangswerten auch signifikant von den Asthma-Probanden ( $p < 0,05$ ).

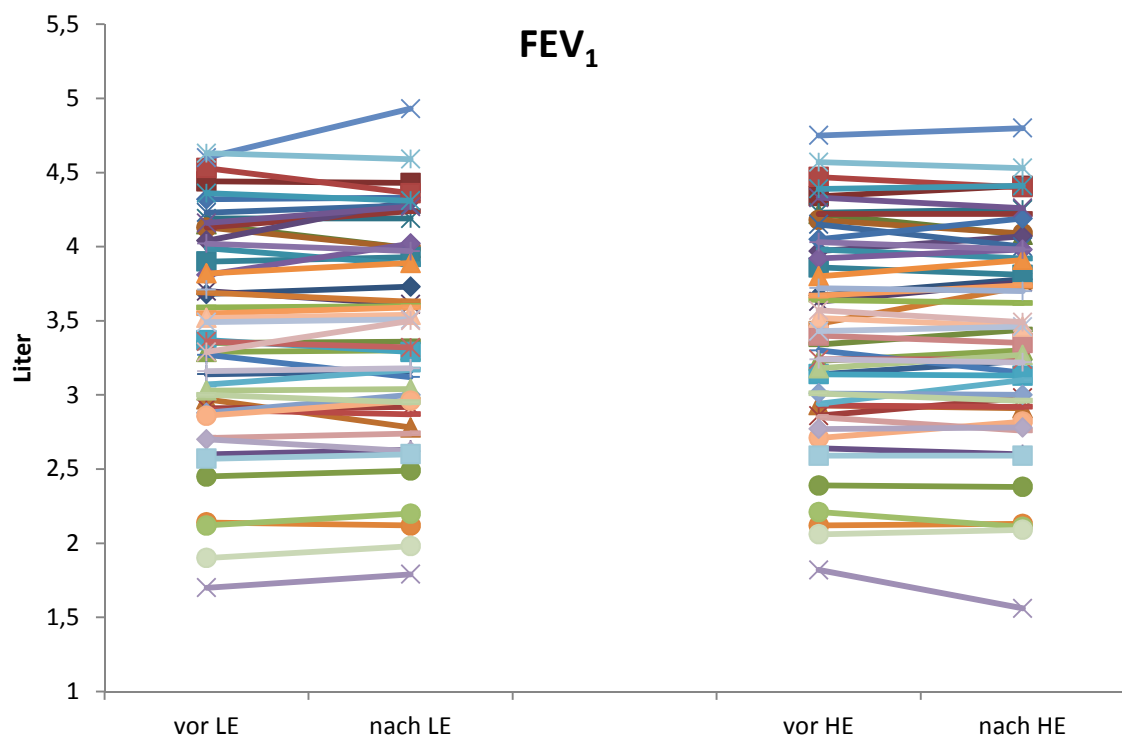


Abbildung 48: Forciertes Einsekundenvolumen im Vergleich der Expositionen.

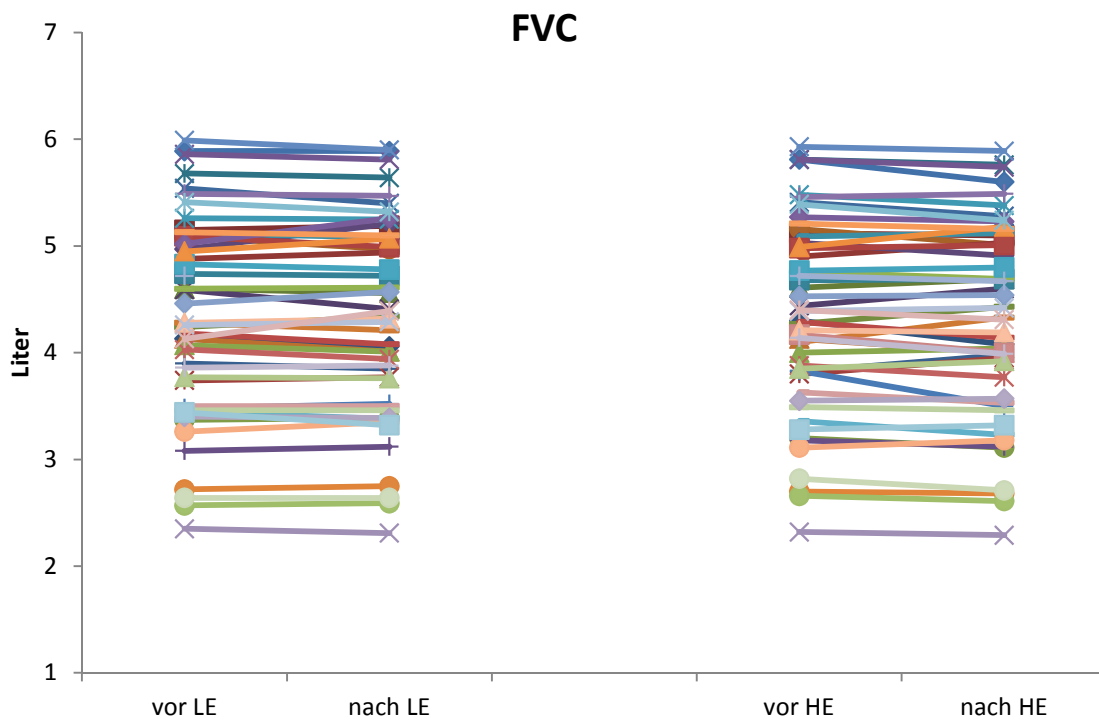


Abbildung 49: Forcierte Vitalkapazität im Vergleich der Expositionen.

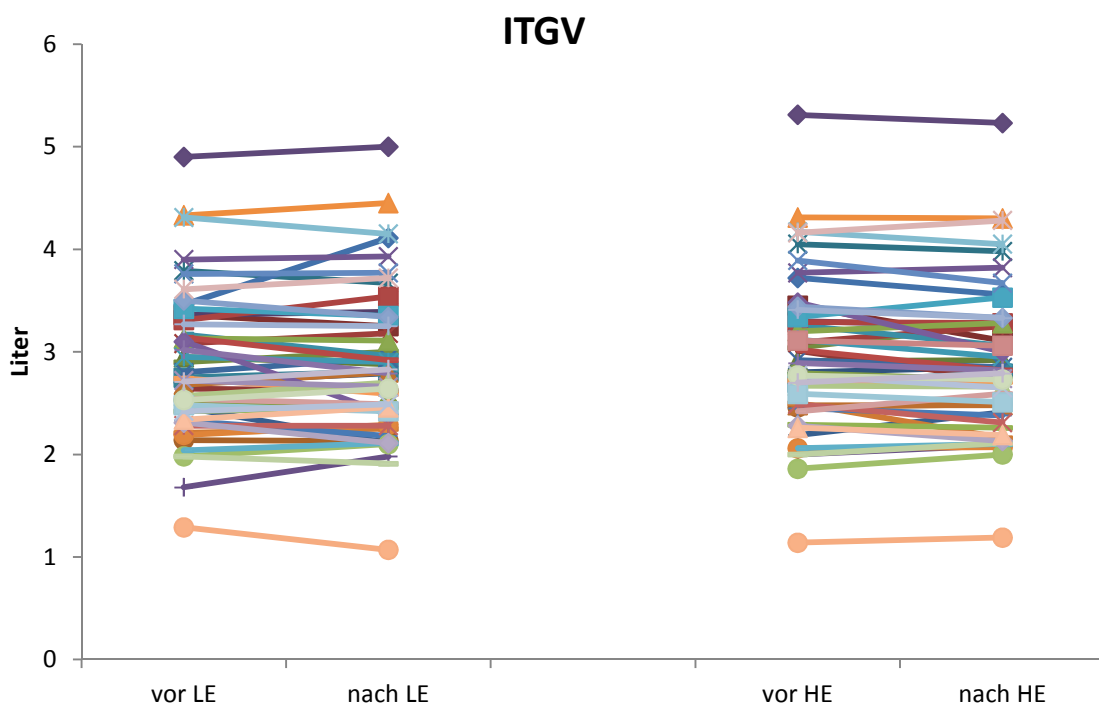


Abbildung 50: Intrathorakales Gasvolumen im Vergleich der Expositionen.

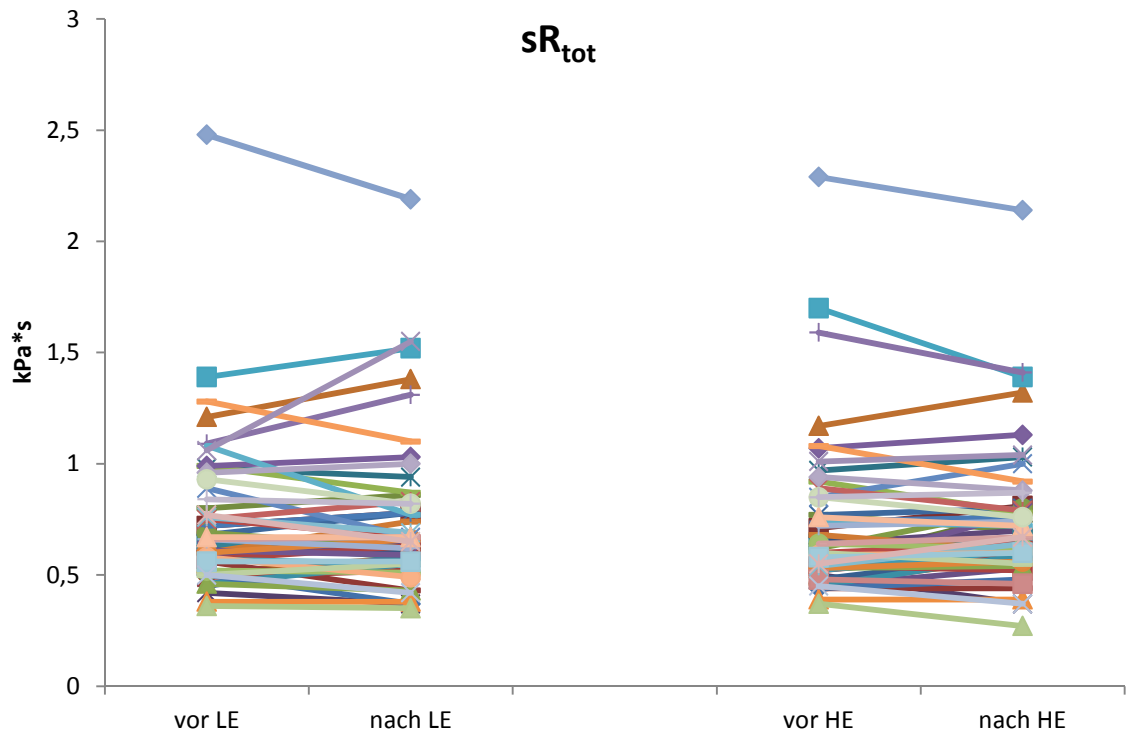


Abbildung 51: spezifischer Atemwegswiderstand im Vergleich der Expositionen.

### Ausgangswerte $sR_{tot}$ vor HE

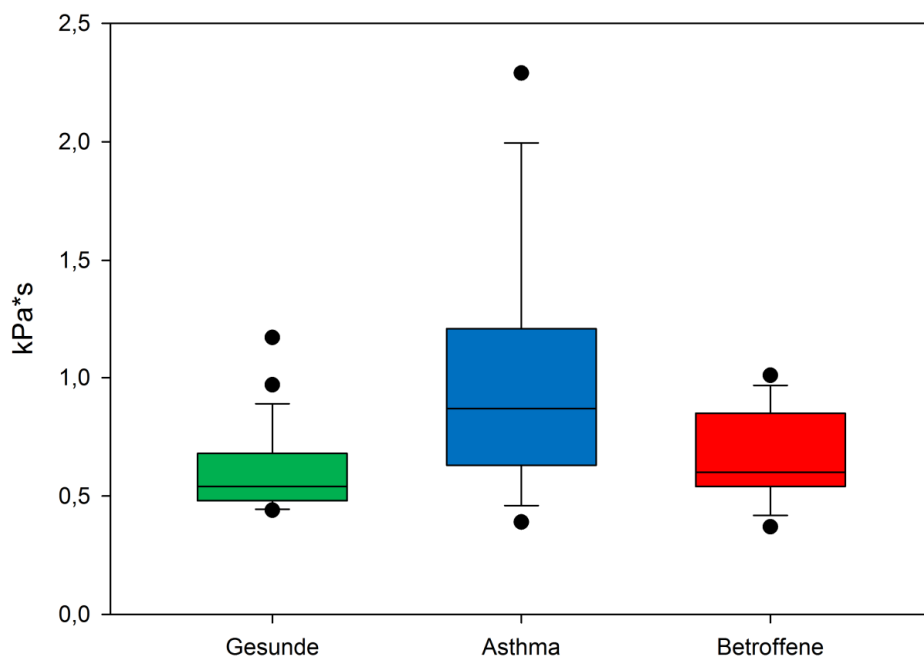


Abbildung 52: Boxplot der Ausgangswerte für  $sR_{tot}$ . Die Balken kennzeichnen den Median, Boxen die Quartile, Whiskers den 1,5-fachen Interquartilsabstand bzw. Minima und Maxima und Punkte Ausreißer.

### 3. Diffusionskapazitäten

Die nachfolgenden Analyseergebnisse beziehen sich auf die Gesamtgruppe der Probanden, da bei Analyse der Untergruppen die Teststärke (Power) gegenüber der Gesamtgruppe in Anbetracht der (erwarteten) Kleinheit der Effekte zu sehr eingeschränkt schien. Darüber hinaus erschien die Gesamtanalyse auch sinnvoll, da es keine plausiblen Argumente gab, auf der Ebene einer alveolären oder pulmonal-vaskulären Reaktion grundlegende Gruppenunterschiede in der Reaktion auf UFP anzunehmen.

In der DLNO, die gemäß den Charakteristika von NO primär gegenüber den Diffusionsbarrieren und nicht gegenüber dem Hämoglobingehalt der Lunge sensitiv ist, fanden sich nach LE ( $p < 0,05$ ) und HE ( $p < 0,001$ ) statistisch signifikante Effekte im Sinne einer geringfügigen Abnahme (-1,9 bzw. -2,6%; Abbildung 53). Die Differenz der Vorher-Nachher-Werte war allerdings nicht signifikant verschieden zwischen den beiden Expositionen ( $p = 0,826$ ; Wilcoxon-Vorzeichenrangtest).

Da der DLNO-Wert von Änderungen von VA affiziert wird, wurden ebenfalls die Werte des volumenbezogenen Quotienten DLNO/VA analysiert (Abbildung 54). Hierbei ergab sich im paarweisen Vergleich eine sehr geringfügige Abnahme nach LE ( $p < 0,05$ ) sowie eine stärker ausgeprägte Abnahme nach HE ( $p < 0,001$ ). Allerdings bestand auch hier kein statistisch signifikanter Unterschied zwischen den Vor-Nach-Differenzen der beiden Expositionen ( $p = 0,663$ ; Wilcoxon-Vorzeichenrangtest). Ungeachtet dieser Einschränkung deuten die Daten, vor allem der massive Unterschied der Signifikanzniveaus, zumindest darauf hin, dass sich nach Exposition gegenüber den HE-Druckern ein stärkerer bzw. stärker konsistenter Effekt einstellte als nach Exposition gegenüber LE-Druckern. Der Effekt war allerdings so gering, dass es bemerkenswert erscheint, ihn überhaupt numerisch identifiziert zu haben.

Darüber hinaus ergab sich für DLCO eine signifikante Abnahme für LE-Exposition (-1,5%,  $p < 0,05$ ) und HE (-1,6%,  $p < 0,05$ ), und zwar auch nach Korrektur für den durch die erste Messung veränderten CO-Hämoglobingehalt (Abbildung 55). Dies steht in Übereinstimmung mit den beschriebenen Effekten auf DLNO, da sich eine Störung des Transports – in geringem Maße – im Prinzip auch in DLCO niederschlagen sollten. Dennoch waren die Vorher-Nachher-Differenzen zwischen beiden Expositionen nicht statistisch signifikant verschieden ( $p = 0,944$ ; Wilcoxon-Vorzeichenrangtest). Da, wie erwähnt, Veränderungen von VA in die Diffusionskapazitätswerte eingehen und die Diffusionskapazität für CO nicht anhand nur einer einzigen Kenngröße bewertet werden sollte, wurden zusätzlich die Werte von DLCO/VA (Transfer-Faktor, Krogh-Faktor) berechnet (Abbildung 51). Dabei fanden sich für die Gesamtgruppe keine statistisch signifikanten Effekte nach LE- oder HE-Exposition ( $p = 0,21$  und  $p = 0,07$ ), entsprechend auch kein Unterschied zwischen den beiden Werten der Vorher-Nachher-Differenzen. Dies bedeutet, dass die beobachteten Änderungen von DLCO, im Gegensatz zu denen von DLNO, weitgehend auf Änderungen des mittels Helium-Verdünnung gemessenen Alveolarvolumens zurückgingen.

In der Tat ergab die statistische Analyse für das Alveolarvolumen (VA) im paarweisen Vorher-Nachher-Vergleich eine sehr geringfügige, jedoch statistisch signifikante Abnahme sowohl nach

LE- (-0,9%,  $p < 0,05$ ) als auch nach HE-Exposition (-0,6%,  $p < 0,05$ ), ohne signifikanten Unterschied zwischen diesen beiden Änderungen (Abbildung 57). Diese Abnahme schien vor allem auf Änderungen in der Gruppe der Betroffenen zurückzugehen. Zu bemerken ist hierbei, dass die Messung von VA von der Tiefe der Einatmung und so gesehen von der Mitarbeit des Probanden abhängt. In den volumenbezogenen Werten der Diffusionskapazitäten ist diese Abhängigkeit zwar ebenfalls im Prinzip noch vorhanden, aber abgeschwächt. Die wesentlichen numerischen Ergebnisse von DLCO und DLNO sowie anderer Funktionsgrößen sind im Tabellenteil (Tabelle 15a und b) angegeben, darüber hinaus prozentuale Änderungen (Tabelle 16) und Gruppenvergleiche (Tabelle 17).

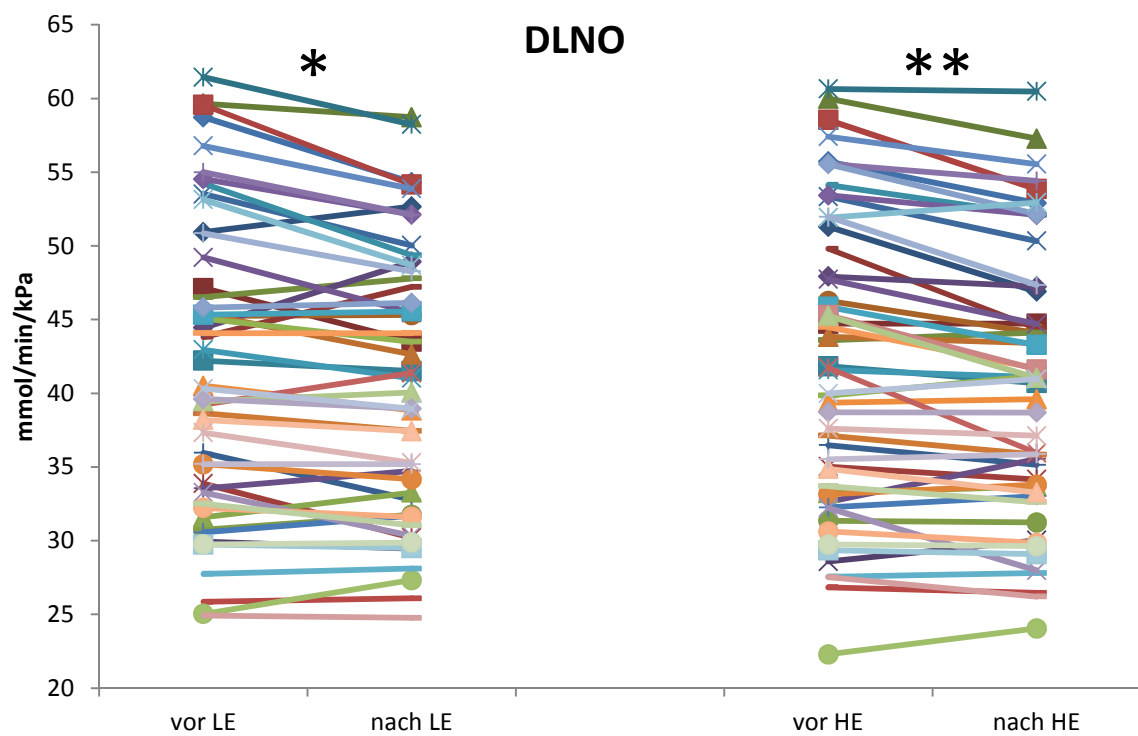


Abbildung 53: Diffusionskapazität für NO im Vergleich der Expositionen.

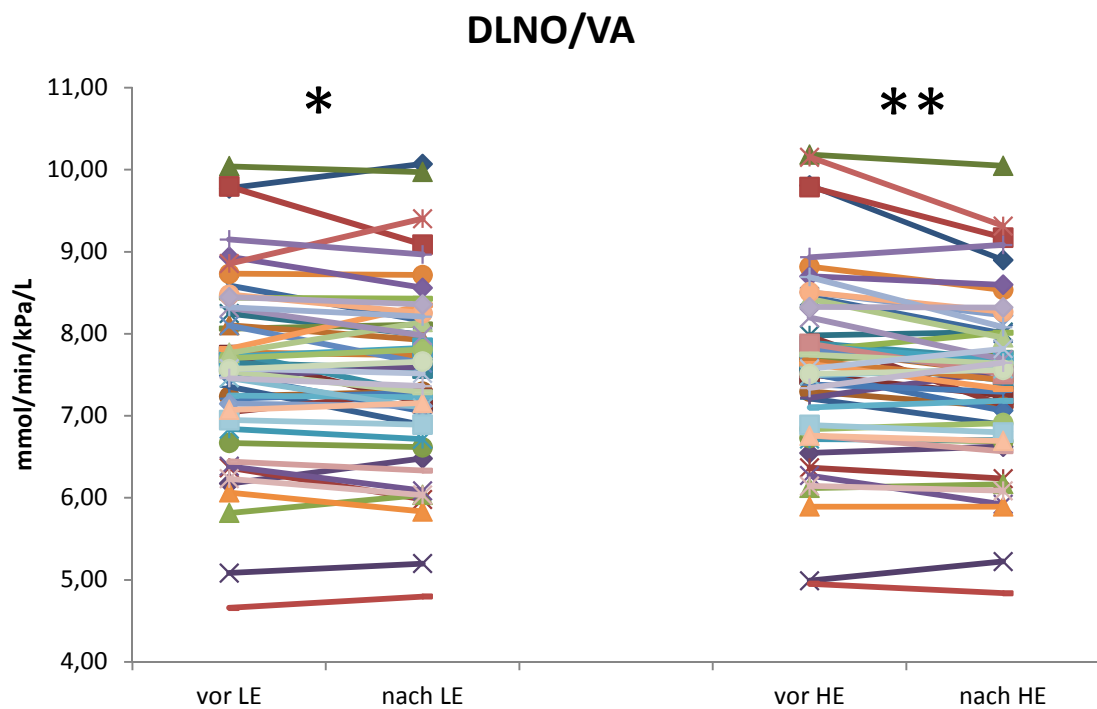


Abbildung 54: Diffusionskapazität für NO, relativ zum Alveolarvolumen, im Vergleich der Expositionen.

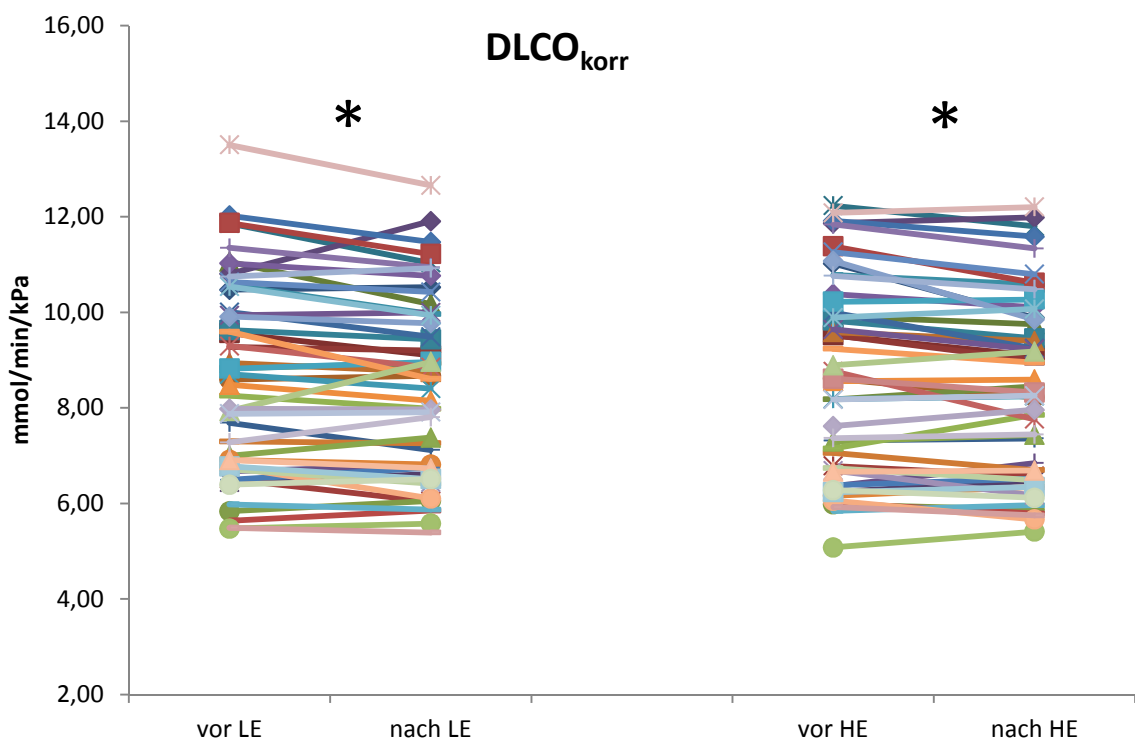


Abbildung 55: Diffusionskapazität für CO im Vergleich der Expositionen (Werte korrigiert für CO im Blut).

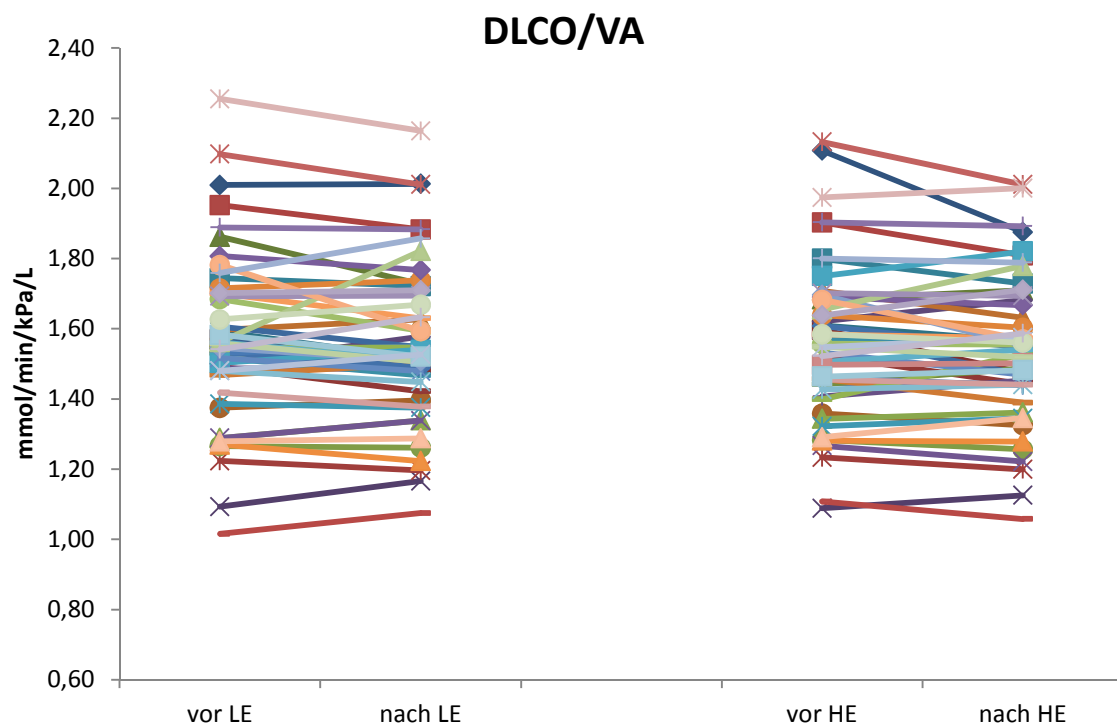


Abbildung 56: Diffusionskapazität für CO, relativ zum Alveolarvolumen, im Vergleich der Expositionen (Werte korrigiert für CO im Blut).

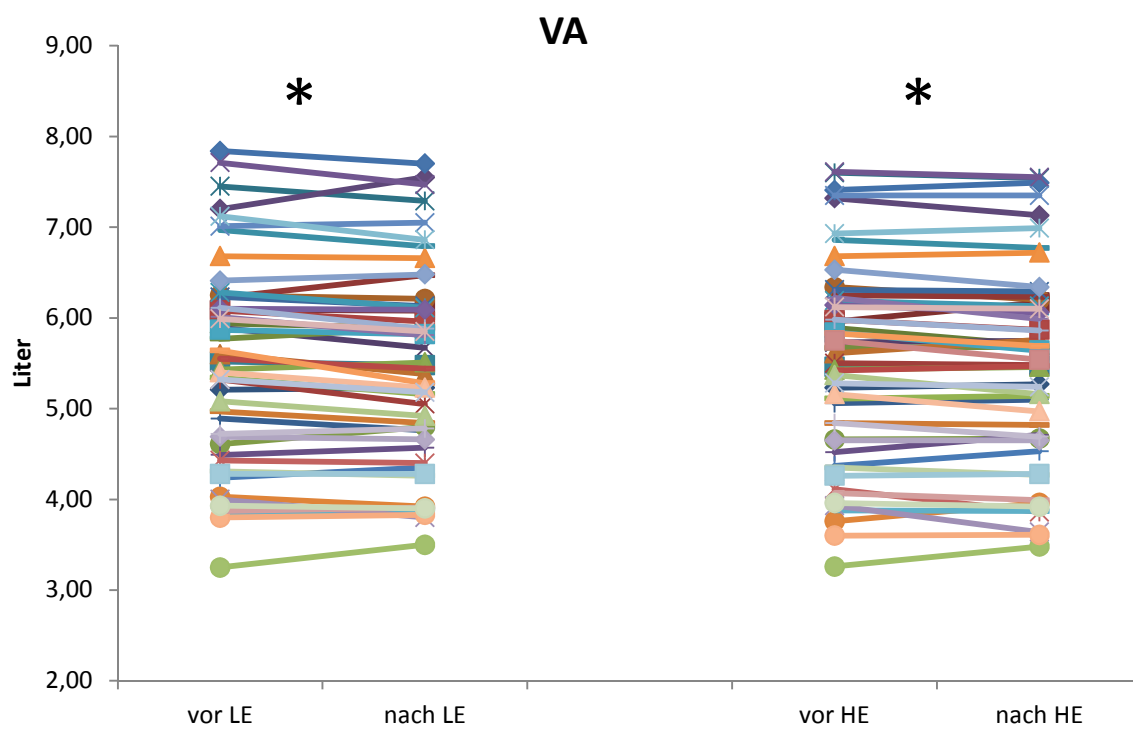


Abbildung 57: Alveolarvolumen im Vergleich der Expositionen.

#### 4. ECP und Gesamt-IgE

Für die Teilnahme an der Studie war es wichtig, dass Personen mit Allergien im Untersuchungszeitraum symptomfrei waren. Serumproben wurden auf die Konzentrationen von ECP und Gesamt-IgE hin untersucht, um zu überprüfen, ob diese Allergie-Marker erhöht waren. ECP wird zur Verlaufskontrolle zahlreicher allergischer Erkrankungen verwendet. Es wird erst im Rahmen der Blutgerinnung aus aktivierten Eosinophilen freigesetzt und spiegelt somit den Aktivierungszustand dieser Zellen im peripheren Blut wider [111]. Die Anzahl der Eosinophilen steigt im Nasensekret bereits 2 Stunden nach Allergenkontakt an [142], im Blut möglicherweise bereits 4, sicher aber rund 24 Stunden nach einer allergischen Reaktion bei Patienten mit Asthma [143].

Im Vorher-Nachher-Vergleich konnte überprüft werden, ob die Druckerexposition einen Einfluss auf diesen Parameter hatte. Die Auswertung ergab, dass die ECP-Konzentration im Blut nach der HE- und LE-Exposition statistisch signifikant anstieg (Abbildung 60, Tabelle 19; Tabelle 15 und 16), jedoch ohne signifikanten Unterschied zwischen den Expositionen. Es fanden sich keine statistisch signifikanten Gruppenunterschiede.

Tabelle 19: Ergebnisse für ECP in den einzelnen Gruppen:

ECP [ $\mu\text{g/L}$ ]		ALLE	GES	AST	BET	HYP	NHYP
LE	n	49	23	13	13	27	22
	Median d. Änd.	0,93	0,87	0,93	1,29	1,10	0,86
	unteres Quartil	-0,13	-0,20	0,23	-0,52	0,07	-0,23
	oberes Quartil	2,54	3,00	1,82	2,54	2,55	2,46
	p	<0,05	<0,05	0,22	0,17	<0,05	0,09
HE	n	51	23	14	14	28	23
	Median d. Änd.	0,90	1,16	1,46	0,51	0,74	1,09
	unteres Quartil	0,02	0,27	0,25	-0,57	-0,52	0,48
	oberes Quartil	2,28	2,28	2,98	0,90	2,8	2,03
	p	<0,001	<0,001	<0,05	0,671	<0,05	<0,001

rot markiert statistisch signifikante Effekte



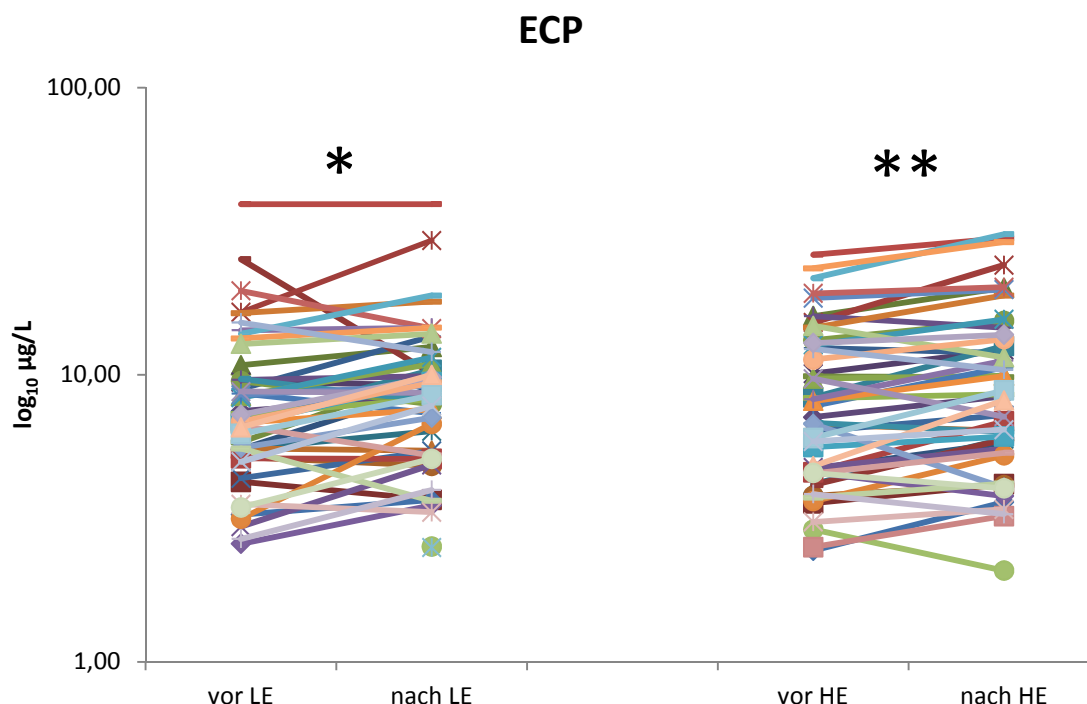


Abbildung 58: ECP-Konzentrationen im Vorher-Nachher-Vergleich der Expositionen.

Die Expression von IgE erfordert Tage oder Wochen, deshalb war zu erwarten, dass sich dessen Konzentration nach Exposition nicht veränderte. In beiden Visiten war jedoch ein geringfügiger, aber statistisch signifikanter Anstieg des Gesamt-IgE-Gehaltes im Serum zu verzeichnen (Abbildung 61, Tabelle 20). Dieser Anstieg war durch die Asthma-Patienten getrieben. Es bestand kein statistisch signifikanter Unterschied zwischen den Expositionen ( $p=0,790$ ; Wilcoxon-Rangsummentest), jedoch war der Anstieg nach HE numerisch größer. Die Asthma-Patienten unterschieden sich in der HE-Exposition im Gruppenvergleich von den Gesunden ( $p<0,05$ ).

Tabelle 20: Ergebnisse für Gesamt-IgE in den einzelnen Gruppen:

TIgE [kU/L]		ALLE	GES	AST	BET	HYP	NHYP
LE	n	49	23	14	12	28	21
	mittlere Änd.	0,7	0,1	1,9	0,7	1,2	0,2
	SD ±	2,1	1,1	3,2	1,5	2,5	1,1
	p	<0,05	0,45	<0,05	0,05	<0,05	0,19
HE	n	50	23	14	13	28	22
	mittlere Änd.	2,0	0,0	3,8	3,6	3,6	0,0
	SD ±	8,0	1,2	7,2	13,7	10,4	1,4
	p	<0,05	0,97	<0,05	0,46	<0,05	0,74

rot markiert statistisch signifikante Effekte

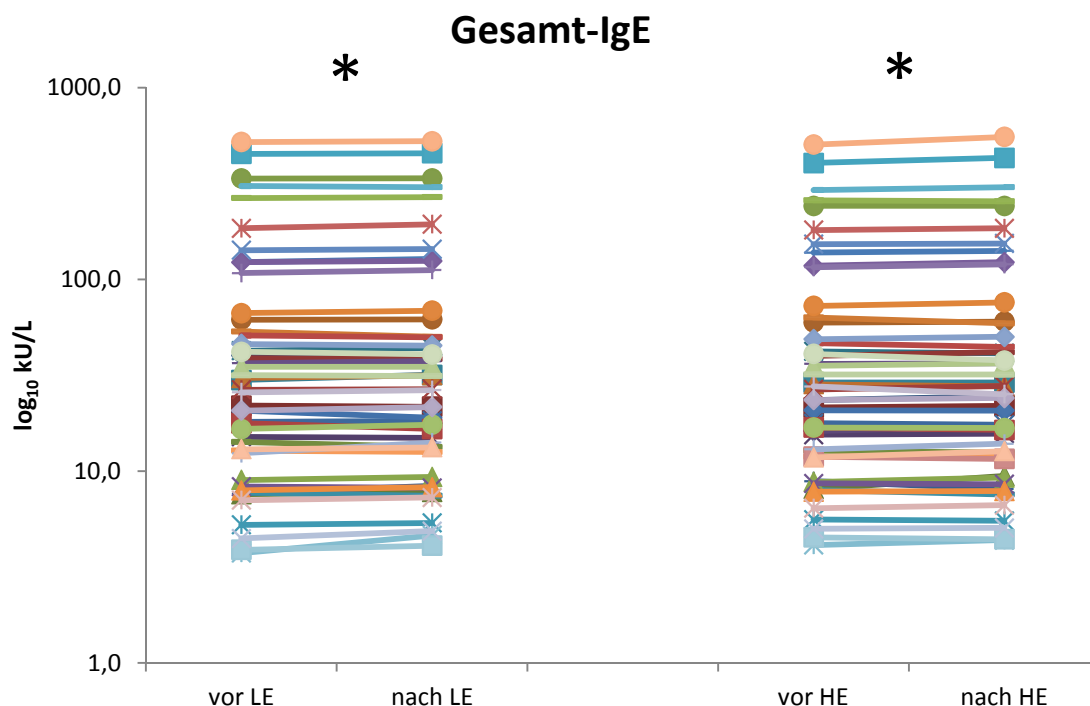


Abbildung 59: Gesamt-IgE-Konzentrationen im Vergleich der Expositionen.

## 5. Entzündungsmarker

### a) H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> in der Ausatemluft

Für beide Visiten separat zeigte sich ein statistisch signifikanter Anstieg von H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> im Atemkondensat (jeweils  $p < 0,001$  über alle Probanden; Abbildung 61, Tabelle 21). Die Höhe des Anstiegs war für HE und LE nicht verschieden ( $p = 0,799$ ; Wilcoxon-Vorzeichenrangtest). Da dieser Effekt bei einer Zwischenauswertung bereits nach etwa der Hälfte der Visiten festgestellt worden war und auf ein trotz aller Bemühungen noch immer nicht ausgeschlossenes Artefakt hindeutete, wurde beschlossen, ungeachtet der positiven Ergebnisse der vorherigen Haltbarkeitstests die zugeführten Standards und Färbelösungen immer jeweils vor der Post-Messung neu anzusetzen. Jedoch war ein Anstieg der Konzentration immer noch zu beobachten.

Somit scheint es, dass kein rein methodologisches Problem zugrunde lag. Zur Klärung wurden sechs Testpersonen gebeten, zweimal hintereinander in unterschiedlichen Zeitabständen Atemkondensat zu sammeln. Die erste Sammlung wurde am Vormittag durchgeführt, die zweite bei 2 Personen nach 1,5 Stunden, bei 4 Personen nach 3,5 Stunden wie nach Druckerexposition. Dazwischen gingen die Personen im selben Gebäude ihrer üblichen Bürotätigkeit nach, aßen nichts und tranken nur Wasser. Bei drei Personen kam es zu einer geringen Abnahme der H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-Konzentration, bei drei Personen zu einer Zunahme, jedoch nur bei einer davon deutlich (Abbildung 60). Überwiegend trat demnach keine markante Änderung der Konzentration über die Zeit auf, vor allem verglichen mit der Amplitude der Änderungen, die vor versus nach den Expositionen beobachtet wurde (Abbildung 61).

In der Literatur wurde beschrieben, dass am Morgen die Konzentrationen an  $\text{H}_2\text{O}_2$  in der Umgebungsluft niedriger liegen [144] und am Nachmittag die höchsten Konzentrationen auftreten.[145] Der Tagesverlauf von  $\text{H}_2\text{O}_2$  in der Umgebungsluft ist bekanntermaßen saisonal unterschiedlich und von vielen Faktoren wie Ozonkonzentration, Sonneneinstrahlung und Luftfeuchtigkeit abhängig.[146-148] Da der eingesetzte Filter nur etwa 80% der Raumluftkonzentration von  $\text{H}_2\text{O}_2$  eliminierte, könnte theoretisch ein Anstieg im Tagesverlauf durch eine Zunahme der  $\text{H}_2\text{O}_2$ -Konzentration in der Umgebungsluft bedingt sein, auch wenn dies eher unwahrscheinlich ist. In einer der methodologischen Vorstudien fand sich bei gesunden Probanden und Patienten mit COPD keine Korrelation zwischen der im Atemkondensat gemessenen und der Raumluftkonzentration von  $\text{H}_2\text{O}_2$  nach Einatmung durch einen Filter. Der Einsatz zweier Filter in Serie zu Verbesserung der Effizienz verbot sich wegen des intolerabel hohen Atemwiderstandes.

Die statistische Auswertung der  $\text{H}_2\text{O}_2$ -Daten schloss sicherheitshalber nur die Subgruppe der Probanden ein, bei der die Reagenzien immer frisch angesetzt worden waren. Bei der Betrachtung der Gesamtgruppe war das Bild allerdings ähnlich.

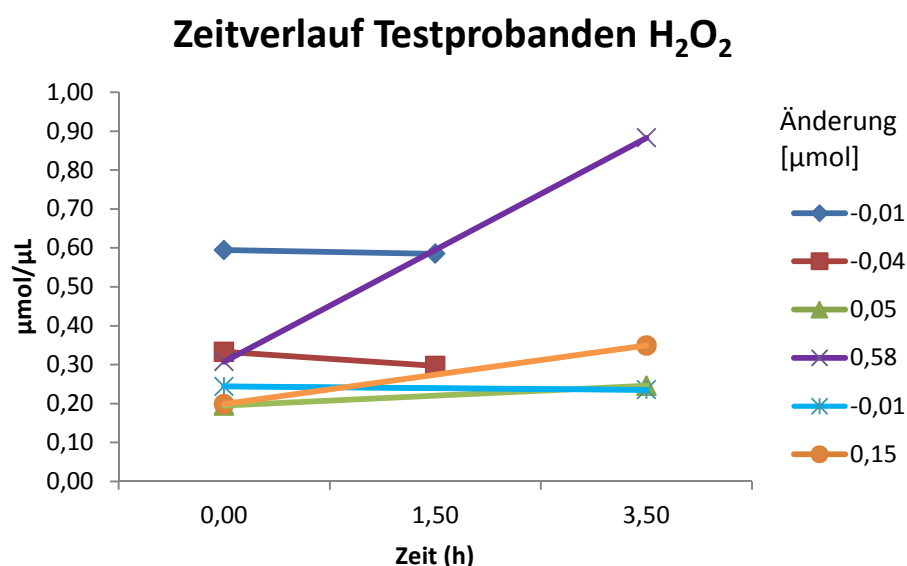


Abbildung 60: Ergebnisse bei 5 Testpersonen, bei denen zur Kontrolle zweimal am selben Tag Atemkondensat gesammelt und auf den Gehalt von  $\text{H}_2\text{O}_2$  untersucht wurde.

Tabelle 21: Ergebnisse für  $H_2O_2$  im Atemkondensat für die einzelnen Gruppen:

$H_2O_2$ $\mu\text{mol}/\mu\text{L}$		ALLE	GES	AST	BET	HYP	NHYP
LE	n	22	4*	8	10	13	9
	Median d. Änd.	0,103	0,223	0,094	0,098	0,102	0,109
	unteres Quartil	0,037	-0,004	0,032	0,056	0,034	0,038
	oberes Quartil	0,311	0,547	0,191	0,407	0,256	0,417
	p	<0,001	0,24	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05
HE	n	18	3*	6	9	12	6
	Median d. Änd.	0,101	0,121	0,164	0,089	0,121	0,101
	unteres Quartil	0,064	0,079	0,028	0,059	0,046	0,072
	oberes Quartil	0,180	0,452	0,180	0,143	0,189	0,121
	p	<0,001	0,25	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05

\*: bei Einbeziehung der Gesunden, bei denen die Reagenzien nicht frisch angesetzt wurden, war die Zunahme ebenfalls statistisch signifikant. Rot markiert sind statistisch signifikante Effekte.

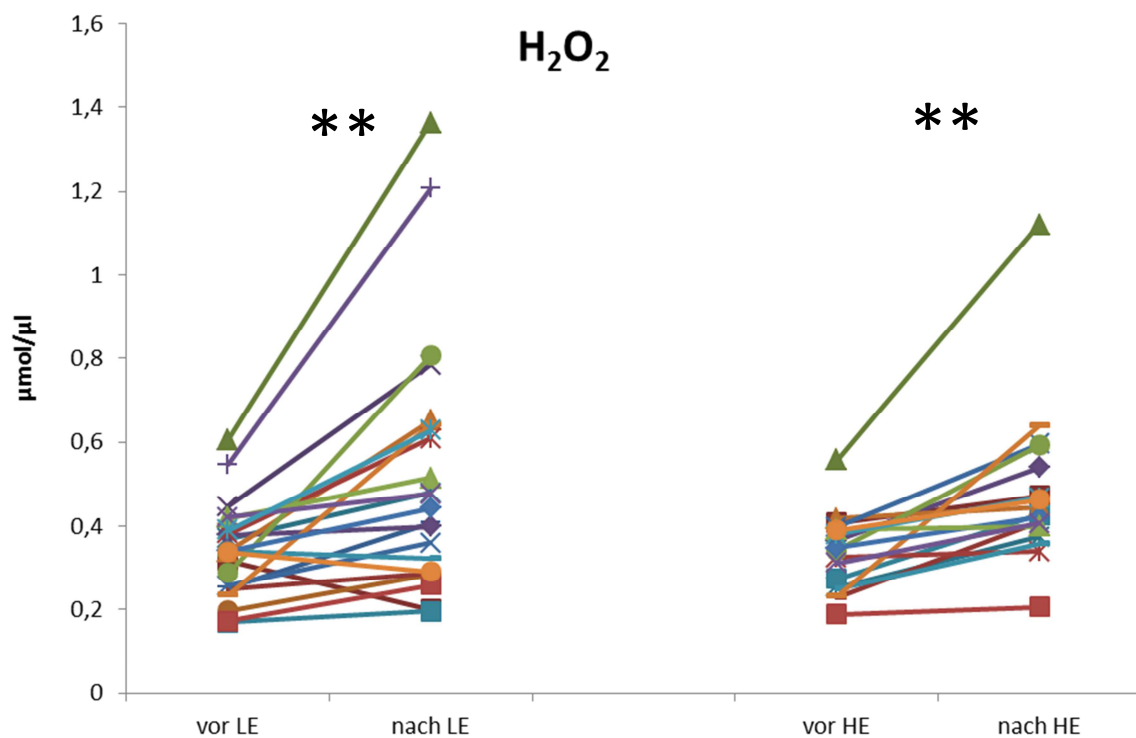


Abbildung 61:  $H_2O_2$ -Konzentrationen im EBC im Vergleich der Expositionen.

#### b) Marker in Blut und Nasensekret

Eine Übersicht über die Ergebnisse der Zytokin-Analyse befindet sich im Tabellenteil (Tabelle 15). Die unterschiedlichen Probanden-Zahlen kamen dadurch zustande, dass bei manchen Zytokinen

die Werte unter der Nachweisgrenze lagen. Bei drei Probanden war eine Analyse des Nasensekrets aufgrund mangelnden Probenvolumens nicht für beide Visiten möglich. Bei SIL-1 $\beta$  lagen die Werte bei fast allen Probanden unter der Nachweisgrenze, so dass eine Aufschlüsselung in Einzelgruppen nicht sinnvoll war. Es ist bekannt, dass die Konzentration von zirkulierendem IL-1 $\beta$  unter normalen physiologischen Bedingungen sehr gering ist. Dieses Interleukin wurde jedoch mit erfasst, da eventuell erhöhte Werte einen Hinweis auf pathologische Prozesse liefern könnten. Durchgehend steht das Präfix „N“ vor dem Namen des Zytokins für „Nase“ und „S“ für „Serum“. Neben Rangtests kamen auch, falls die Prüfung der Verteilung dies erlaubte, parametrische Tests zum Einsatz.

Nach LE-Exposition fand sich eine Erhöhung der Konzentration von SIL-1 $\beta$  bei den vier Probanden mit Werten oberhalb der Nachweisgrenze, jedoch ist ein solcher Befund naturgemäß trotz des p-Wertes nicht sehr belastbar ( $p < 0,001$ ). Im Nasensekret trat analog bei den 19 nicht hyperreagiblen Probanden eine Änderung auf ( $p < 0,05$ ). Die Konzentration von SIL-6 nahm bei Asthma-Probanden und Hyperreagiblen in der LE-Visite leicht ab ( $p < 0,05$ ). Hingegen stieg die Konzentration von NIL-6 in der LE-Visite in allen Gruppen signifikant an, ferner in der HE-Visite bei allen Probanden außer den Gesunden und den Betroffenen (Abbildung 62). Die Konzentration von NIL-8 änderte sich in der Gesamtgruppe nach LE-Exposition gering, jedoch nicht statistisch signifikant, gleichfalls nach HE-Exposition.

Für die Gruppenvergleiche wurden die Delta-Werte herangezogen. Hier zeigte sich ein Unterschied zwischen Hyperreagiblen und nicht Hyperreagiblen in der Konzentration von SIL-5 nach HE-Exposition ( $p < 0,05$ ) und derjenigen von NIL-1 $\beta$  nach LE-Exposition ( $p < 0,05$ ). Bei den nicht hyperreagiblen Probanden stiegen jeweils die Konzentrationen stärker an. Asthma-Probanden und Betroffene unterschieden sich hinsichtlich NIL-6 nach LE, indem die Werte der Betroffenen stärker anstiegen ( $p < 0,05$ ).

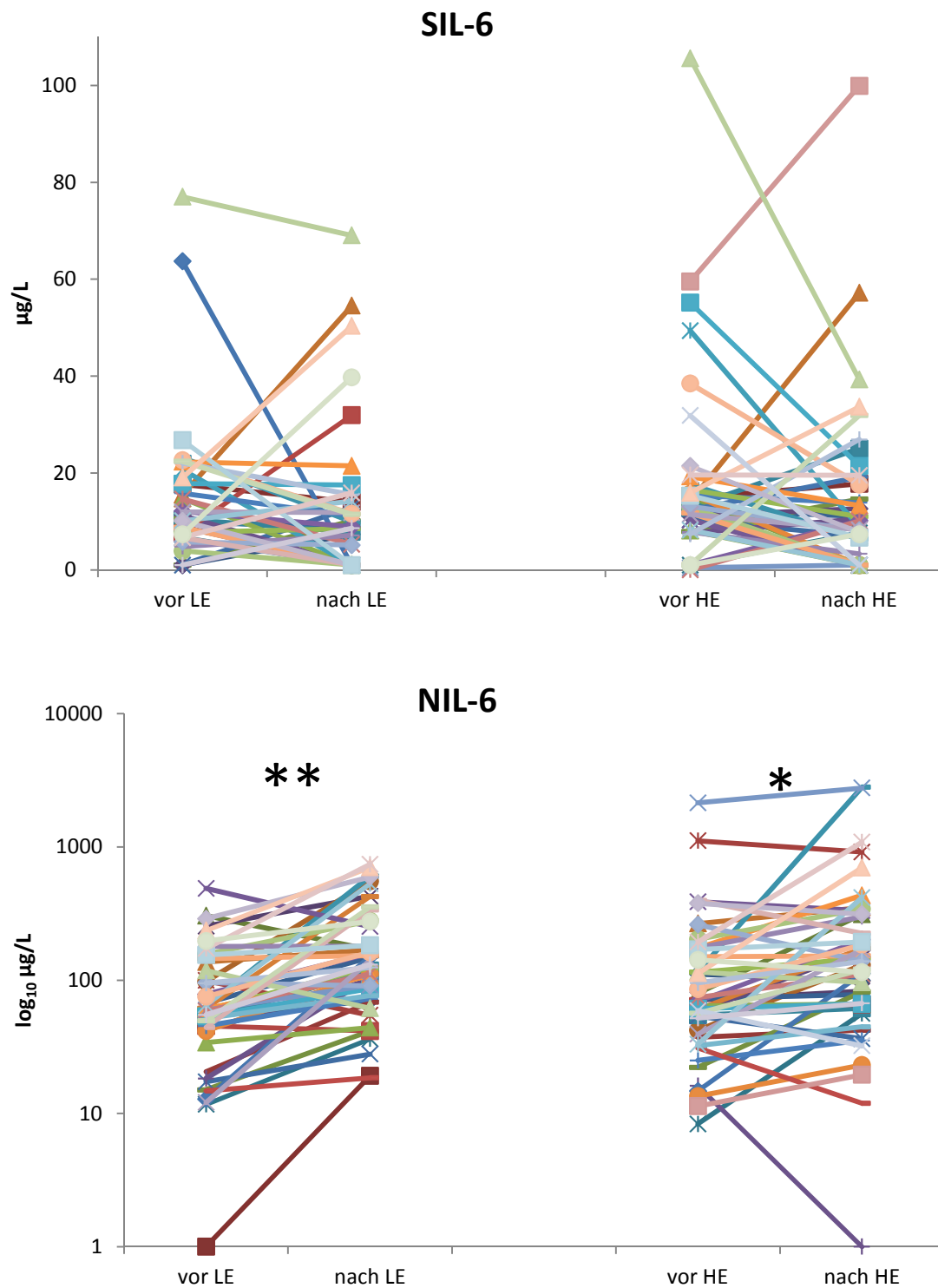


Abbildung 62: Serum-IL-6 und nasales IL-6 im Vergleich der Expositionen.

Bei einigen Entzündungsmarkern kam es in einzelnen Gruppen zu statistisch signifikanten Änderungen ( $p < 0,05$ ). Allerdings ist hier die Multiplizität der Tests zu berücksichtigen, die bei entsprechender Absenkung der Signifikanzniveaus, beispielsweise um den Faktor 5 auf  $p = 0,01$  häufig zum Verschwinden der statistischen Signifikanz führte:

- Anstieg von SIL-5 bei nicht Hyperreagiblen in der HE-Exposition um im Mittel 10,2 µg/L bei n=7
- Abnahme von SIL-6 bei Asthma-Probanden und Hyperreagiblen nach LE um im Mittel 2,9/4,6 µg/L bei n=11 bzw. 22
- Zunahme von NIL-1β bei nicht Hyperreagiblen nach LE um im Mittel 18µg/L bei n=19
- Anstieg von NGM-CSF bei nicht Hyperreagiblen nach LE um im Mittel 43µg/L bei n=19

Studien zu Referenzwerten von Zytokinen sind rar. Bio-Rad, der Hersteller der Analysekits, hat in der Beschreibung der Kits die Serum-Werte von 66 gesunden Personen jeden Alters aus verschiedenen Ethnien aufgelistet (Tabelle 22).

*Tabelle 22: Physiologische Konzentrationen der Zytokine im Serum [149]:*

	Median (pg/ml)	Mittelwert (pg/ml)
IL-1β	0	0,01
IL-5	0	0,15
IL-6	0	0,73
IL-8	0	7,21
GM-CSF	6,78	12,47
IFNγ	8,68	13,43
TNFα	0	5,92

Die Analyse von 8-OHdG im Serum war bei zwei Probanden aufgrund eines technischen Problems nicht möglich. Die Werte waren nicht normalverteilt. Über alle Probanden betrugen die Medianwerte (Quartile) vor und nach LE-Exposition 0,184 (0,154; 0,228) ng/mL bzw. 0,167 (0,142; 0,209) ng/mL, ( $p=0,08$ ), sowie vor und nach HE-Exposition 0,185 (0,139; 0,222) ng/mL bzw. 0,180 (0,153; 0,223) ng/mL ( $p=0,71$ ). Die Messwerte lagen in dem für Gesunde angegebenen Bereich von 0,1-0,3 ng/mL.

Es waren keine statistisch signifikanten Unterschiede zu detektieren (Tabelle 15), weder bei der Analyse der Gesamtgruppe noch bei derjenigen der Einzelgruppen, bis auf einen Abfall in der Gruppe der Asthmatiker nach LE-Exposition ( $p < 0,001$ ).





## IV Kognitive Leistungstests

Die Auswertung der Leistungstests lieferte eine Fülle an Ergebnissen, deren Betrachtung nicht Inhalt dieser auf Exposition und physiologische Größen fokussierten Darstellung ist. Es sollen nur die wichtigsten Punkte beschrieben werden, um einen Überblick zu geben.

Alle Variablen wurden unter Kontrolle bzw. Bereinigung des Probandenalters betrachtet. Dies ist sinnvoll, da es einen Altersunterschied zwischen den Gruppen gab.

Zunächst wurde die kognitive Leistungsfähigkeit der Studienteilnehmer im Bevölkerungsvergleich betrachtet. Gesunde und Asthma-Patienten zeigten einen überdurchschnittlich guten Gesamtleistungswert im d2-Test, die Gruppe der Betroffenen eher den Bevölkerungsdurchschnitt. Im Bereich Kurzzeitgedächtnis schnitten jedoch alle drei Gruppen etwas besser ab als der Bevölkerungsdurchschnitt.

Bei der Konzentrations-Gesamtleistung, die über den d2-Test bestimmt wurde, fand sich keine signifikante Änderung im Vorher-Nachher-Vergleich der Expositionen.

Im Benton-Test, mithilfe dessen das Kurzzeitgedächtnis überprüft wurde, verschlechterte sich die Leistung bei den Gesunden nach LE signifikant ( $p=0,44$ ) und tendenziell bei den Betroffenen nach HE ( $p=0,81$ ).

Bezüglich der Zahl der gelösten Labyrinth verschlechterten sich die Gesunden nach LE und verbesserten sich nach HE. Die Zeit bis zur Lösung der Labyrinth veränderte sich nicht. Gesunde stießen unabhängig von der Exposition signifikant seltener an die Wände des Labyrinths als die übrigen Teilnehmer ( $p=0,17$ ). Die Häufigkeit des Absetzens unterschied sich nicht signifikant.

Untersucht man die Unterschiede zwischen Probanden mit und ohne bronchiale Hyperreagibilität, so fand sich nach beiden Expositionen eine signifikante Zunahme der gelösten Labyrinth über beide Gruppen ( $p<0,001$ ). Außerdem mussten nicht hyperreagible Personen seltener absetzen ( $p=0,02$ ).



## E Diskussion

Die vorliegende Studie sollte zur Aufklärung des Gefahrenpotentials von Laserdruckgeräten beitragen. Eine der Schwierigkeiten beim Design bestand darin, dass von Betroffenen im Zusammenhang mit dem Betrieb dieser Geräte mannigfaltige Beschwerden geäußert werden, die aus klinischer Perspektive nicht einem einzelnen Organsystem oder klar abgegrenzten pathologischen Befund zugeordnet werden können. Auch lassen die Unterschiede im zeitlichen Auftreten der Beschwerden und ihrer Persistenz viele Möglichkeiten pathophysiologischer Mechanismen zu. Ferner stellt sich die Frage, ob und wie weit mögliche Effekte chronischer Expositionen aus kurzzeitigen Expositionen extrapoliert werden können.

Aus diesem Grunde ist die durchgeführte experimentelle Kurzzeit-Exposition notwendigerweise in ihren Schlussfolgerungen limitiert. Sie stellt jedoch die einzige Möglichkeit dar, unter kontrollierten Bedingungen eine Vielzahl von teils aufwändig zu erfassenden Messgrößen möglichst präzise zu erfassen und mit hoher Wahrscheinlichkeit einer Noxe zuzuordnen.

Zwei Fragen standen im Vordergrund der Untersuchung und Datenanalyse:

- I. Lassen sich nach kurzfristiger Exposition gegenüber Druckeremissionen physiologische Effekte in der Lunge oder anderen ausgewählten Organsystemen mittels objektiver Messgrößen und quantifizierender Methoden feststellen und nehmen diese möglicherweise ein klinisch relevantes Ausmaß an?
- II. Gibt es Unterschiede der Reaktion zwischen den Gruppen und lassen sich diese im Sinne einer Prädisposition für das Auftreten von Effekten interpretieren, vor allem bei Personen, die Beschwerden nach Umgang mit Laserdruckern berichten, oder bei anderen Personen, deren Bronchialsystem für eine Reaktion prädisponiert erscheint?

Diese Fragen werden im Folgenden diskutiert.



## **I Klinische Effekte der Laserdruckerexpositionen und Bedeutung für die Gesundheit**

Die Analyse der objektivierbaren Reaktionen nach Exposition gegenüber HE- und LE-Druckern ergab ein heterogenes Bild. Neben Verfahren der Lungenfunktion kamen auch avancierte und von uns teilweise vorab noch weiter verbesserte Analyseverfahren der Ausatemluft, des Serums und des Nasensekrets zum Einsatz.

In Anbetracht der vielfach durchgeführten statistischen Tests muss man die Möglichkeit falsch-positiver Ergebnisse maßgeblich in Betracht zu ziehen. Dies gilt vor allem für die biochemischen Messgrößen, die nicht so leicht wie beispielsweise diejenigen der Lungenfunktion in einen physiologisch eindeutig begründbaren Zusammenhang zu setzen sind. Bei der begrenzten Zahl an Probanden und der zugleich großen Zahl der Messgrößen und möglichen Vergleichen erschien es allerdings nicht ratsam, von vornherein eine Korrektur für die Multiplizität der Tests beispielsweise nach Bonferroni durchzuführen. Andererseits war es aufgrund von Abweichungen von der Normalverteilung kein durchgehend gangbarer Weg, mit Hilfe parametrischer varianzanalytischer Modelle und darin implementierter multipler Vergleiche die Modellierung kompakter zu fassen; auch hätte dies zusätzliche Annahmen impliziert.

Aus diesen Gründen galt die Präferenz einfachen paarweisen Gruppenvergleichen, entweder parametrisch oder nichtparametrisch. Soweit die Gesamtgruppe der Probanden analysiert wurde, können diese Tests bei Vorliegen einer Normalverteilung als Tests ähnlicher Power gelten. Es war nicht möglich, in jedem Fall durch eine Transformation der Daten eine Normalverteilung zu erreichen; daher waren die nichtparametrischen Tests unerlässlich. Als praktikable Strategie zur Handhabung der multiplen Testungen erschien es, die p-Werte der Einzeltests unkorrigiert anzugeben, sich für die Interpretation aber vorzugsweise auf Ergebnisse zu stützen, deren p-Wert kleiner oder gleich 0,01 statt der konventionellen 0,05 war. Dies würde auch der Tatsache Rechnung tragen, dass für jede Messgröße sowohl ein Vor-Nach-Vergleich für jede der beiden Expositionen stattfand als auch ein Vergleich der Ausgangswerte vor Exposition (diese erwiesen sich als vergleichbar), als auch gegebenenfalls ein Vergleich der Nach-Vor-Differenzen zwischen beiden Expositionen, also insgesamt 5 Tests.

Grundsätzlich ist zweierlei anzumerken: Erstens können Änderungen in von uns nicht erfassten Messgrößen nach Exposition gegenüber Druckeremissionen natürlich nicht ausgeschlossen werden. Um dieses Problem zu minimieren, wurden potenzielle Effekte möglichst breitbandig erfasst. Zweitens konnten die beobachteten individuellen Reaktionen nicht in Beziehung zur detaillierten individuellen Anamnese oder Vorbelastung gesetzt werden; dies wäre selbst bei  $n=52$  angesichts der Heterogenität der Probanden ein hoffnungsloses Unterfangen und hätte jenseits von Fallbeschreibungen keinerlei weitere Aussagekraft gehabt. Die Probanden waren jedoch angehalten, vor den Expositionen anderweitige Belastungen zu vermeiden, um zumindest akute Einflüsse auf die Ergebnisse zu minimieren. Als objektive Messgröße zur Abschätzung möglicher partikulärer und anderer inhalativer Umweltbelastungen vor den Expositionen stand das exhalierete Kohlenmonoxid zur Verfügung. Dessen Ausgangswerte zeigten zwar eine Streuung zwischen den Probanden, unterschieden sich aber nicht systematisch zwischen den

verschiedenen Untersuchungsterminen bzw. -bedingungen Eine tentative Analyse der individuellen Reaktionen in Abhängigkeit von den Ausgangswerten ergab zwar keine konklusiven Resultate, der Ansatz wird aber von uns weiter verfolgt werden, auch in Hinsicht auf die noch ausstehenden, nicht formal zum Forschungsprojekt gehörigen EKG-Daten. Ferner erwies es sich, primär aus logistischen Gründen, als nicht möglich, den Zeitraum der Nachbeobachtung auszudehnen; dies wäre zwar wünschenswert gewesen, hätte angesichts der Rekrutierungsprobleme jedoch eine weitere massive Erschwernis bedeutet. Es sei jedoch betont, dass in experimentellen Studien zur Wirkung inhalativer Belastungen inklusive partikulärer Emissionen in der Regel auch akute, d.h. innerhalb von Stunden auftretende Effekte beobachtet wurden. Dementsprechend wählten wir in Hinblick auf die erfassten physiologischen Größen die Reihenfolge der Messungen so, dass sie den erwarteten Zeitskalen der jeweiligen Reaktionen entsprach. Aus diesem Grunde wurden beispielsweise Lungenfunktionsmessgrößen früh und Entzündungsparameter so spät wie möglich nach Exposition erfasst.

#### Ausgeatmetes Stickstoffmonoxid

Einige der von uns vorab für möglich und plausibel gehaltenen Änderungen traten nicht bzw. nicht in messbarem Ausmaß ein. Dies gilt zunächst für das ausgeatmete NO. So wäre denkbar gewesen, dass die  $\text{NO}_{\text{alv}}$ -Werte nach HE-Exposition erniedrigt gewesen wären, falls Nanopartikel entweder eine merkliche Imbalance des Flüssigkeitshaushaltes in den Alveolen und/oder eine lokale oxidative Reaktion auslösen. Diese Effekte traten jedoch offenbar nicht ein. Möglicherweise waren die Änderungen zu klein, um selbst mit einer optimierten NO-Messtechnik erfassbar zu sein, möglicherweise waren sie von anderen Effekten überdeckt. Die von uns eingesetzte Methode der Bestimmung von  $\text{NO}_{\text{alv}}$  durch einen speziellen statistischen Ansatz in Verbindung mit einem mathematischen Modell hatte sich in vorangegangenen Studien als die beste Synthese von Aufwand und erzielbarer Genauigkeit herausgestellt. In den Konzentrationen von  $\text{NO}_{\text{bro}}$ , die ohne Modellierungsaufwand bei einer Ausatemrate von 50 mL/s direkt messbar waren, zeigten sich nach Exposition ebenfalls keine Änderungen. Ein Anstieg des bronchialen NO wäre ein Hinweis auf eine vornehmlich eosinophile Entzündungsreaktion in den Atemwegen gewesen, ein Abfall eher für eine neutrophile Reaktion oder eine deutliche Mukusproduktion. Eine Reduktion wurde in einigen Studien beispielsweise nach Inhalation von hypertoner Kochsalzlösung ([63]) berichtet, wenngleich keineswegs einheitlich über alle Untersuchungen hinweg. Derartige Reaktionen allerdings galten im Vorfeld als eher unwahrscheinlich, da von einer relativ geringen Deposition der Nanopartikel in den Bronchien auszugehen ist. *In summa* ergaben die Befunde des bronchialen und alveolären NO keinen Hinweis auf eine induzierte Entzündungs- oder anderweitige Reaktion in den Atemwegen und Alveolen.

#### Spirometrie und Bodyplethysmographie

In der Spirometrie zeigten sich ebenfalls keine signifikanten Änderungen. Dies war nicht unerwartet, da die Spirometrie nur bei markant bronchokonstriktorischem Effekten der Nanopartikel verändert gewesen wäre. Auch gibt es aus der Literatur keine Hinweise darauf, dass Nanopartikel - wie für Ozon bekannt - statt einer Obstruktion eine Art vorübergehender funktioneller Restriktion auslösen, die sich in einer parallelen Verringerung von  $\text{FEV}_1$  und FVC niederschlägt. In dieser Studie diente die Spirometrie auf der einen Seite hauptsächlich zur

Dokumentation eines gleichbleibenden klinischen Zustandes der Probanden und auf der anderen Seite als Sicherheits-Backup, falls doch wider Erwarten deutliche funktionelle Effekte auftreten wären.

Eine höhere Sensitivität, Änderungen zu detektieren, ließ sich von der Bodyplethysmographie erwarten. Zu diesem Zweck wurde der totale spezifische Atemwegswiderstand herangezogen, der sich aus den gemessenen Atemschleifen durch Anlegen einer Geraden zwischen den Spitzenamplituden des Kabinendrucks im Fluss-Druck-Diagramm ergibt. Dieser Wert ist zwar numerisch weniger stabil als der sonst empfohlene effektive Widerstand, der sich durch eine Art Mittelwertbildung über die Atemschleife ergibt, gilt allerdings als sensitiver gegenüber kleinen Änderungen bzw. Störeffekten. In der Vorbereitung entschieden wir uns für den totalen Widerstand, da wir unter kontrollierten Bedingungen mit Vor-Nach-Messungen bei den gleichen Probanden arbeiteten und damit die Vergleichbarkeit der Messungen in höherem Maße gewährleistet war als das in der klinischen Praxis normalerweise der Fall ist. Es ist bekannt, dass bei sehr niedrigen Ausgangswerten des Atemwegswiderstandes, gleich ob als totaler oder effektiver Widerstand ausgewertet, die relativen Schwankungen spontaner Art stark sein können, ohne dass hierbei jemals der Normbereich verlassen würde. Eine Zunahme des spezifischen Atemwegswiderstandes ist zwar im Prinzip und der Richtung nach advers, jedoch in Hinsicht auf ihre mögliche klinische Bedeutung immer in Bezug zum Normbereich zu sehen.

Der bodyplethysmographisch gemessene Anstieg von  $sR_{tot}$  bei der Gruppe der Gesunden nach HE-Exposition war überraschend. Er zeigte eine geringfügige Verengung der Atemwege an. Ein solcher Effekt wäre eher für die Probanden mit hyperreagiblem Bronchialsystem oder Betroffenen zu erwarten gewesen. Es handelte sich vermutlich um eine Antwort der oberen Atemwege, zu denen auch die Stimmbänder als schwer zu kontrollierende Determinante des gesamten Atemwegswiderstandes zu zählen sind. Den beobachteten Änderungen von  $sR_{tot}$  korrespondierten keine entsprechenden Änderungen in der Spirometrie, die - zumindest bei Vorliegen einer normalen Lungenfunktion - als sensitiv für die gesamten, auch die unteren Atemwege gilt. Auch verblieben die Werte von  $sR_{tot}$  nach Anstieg im Normbereich. Auf der Basis dieser Überlegungen ist es wahrscheinlich, dass die beobachtete Änderung nicht als im klinischen Sinne relevante Reaktion zu werten ist. Eine mögliche Veränderung des Atemwegswiderstandes  $R_{tot}$  ist komplexer als eine von  $sR_{tot}$ , da sie sowohl durch eine Änderung des spezifischen Atemwegswiderstandes als auch eine Verschiebung des intrathorakalen Gasvolumens (ITGV) zustande kommen kann. Letztere wäre denkbar, wenn die Probanden in der Antwort auf die Partikelinhalation ihre volumetrische Atemendlage geändert hätten, verbunden beispielsweise mit einer Änderung des Atemmusters. Dies war jedoch nicht der Fall.

#### Diffusionskapazität

Die Messung der Diffusionskapazität für NO ergab für die absolute DLNO und die volumen-bezogene DLNO/VA einen statistisch signifikanten Effekt. Dieser fiel nach HE- stärker als nach LE- Exposition aus, wenn man die Größe und die im Signifikanzniveau widerspiegelte Konsistenz der Änderungen zugrunde legte. Allerdings war der numerische Unterschied der in beiden Expositionen gemessenen Änderungen nicht statistisch signifikant von Null verschieden. Daher sind die beobachteten Effekte mit gewisser Vorsicht zu interpretieren, wenn man einen möglichen systematischen Unterschied zwischen den beiden Expositionen im Auge hat. Die

Befunde sollten aber im Lichte der Voruntersuchung analysiert werden, in der eine gezielte Intervention (Inhalation hypertoner Kochsalzlösung) einen Effekt auf die NO-Diffusionskapazität bewirkt hatte, der sich in naheliegender Weise direkt als Störung des Flüssigkeitshaushaltes in der Lunge interpretieren ließ.

Die nach HE-Exposition beobachtete mittlere Abnahme der DLNO um 2,6% war ähnlich derjenigen, die sich nach 20-minütiger Inhalation hypertoner Kochsalzlösung in Form einer mittleren Abnahme um 3,6% gezeigt hatte. Es liegt nahe, einen ähnlichen Mechanismus anzunehmen und zu vermuten, dass auch nach HE-Exposition die Abnahme von DLNO bzw. DLNO/VA durch eine Flüssigkeitsansammlung in den Alveolen im Sinne eines sehr geringgradigen Ödems zustande kam. Die Aussagen der wissenschaftlichen Literatur zur Interpretation von DLNO sind derzeit wenig umfangreich. Daher sind auch einzelne Beobachtungen von Interesse, die bei der Interpretation helfen können. Dressel et al. [150] untersuchten die Auswirkungen hypobarer Hypoxie auf Bergsteiger im Rahmen einer Höhenstudie (kurzzeitige Verbringung auf ca. 4000 m). Die Höhenkrankheit kann bekanntlich in ausgeprägten Fällen mit einem Lungenödem einhergehen, das mit Effekten auf den Gastransport verbunden ist. Die Veränderungen von DLNO waren nach Korrektur für die veränderten Umgebungsbedingungen im Allgemeinen eher diskret. Bei einem Probanden jedoch, der unter stark ausgeprägter Höhenkrankheit litt, kam es zu einer Abnahme der DLNO von 51,6 auf 42,1 mmol/min/kPa, d. h. um 18,4%. Auch wenn die klinischen Zeichen eines Lungenödems nicht eindeutig bzw. in vollem Umfang vorlagen, spricht diese Beobachtung dafür, dass die Messgröße DLNO auf diese Art von physiologischer Imbalance tatsächlich reagieren kann.

Der Höhenkrankheit liegt u. A. eine hypoxische pulmonale Vasokonstriktion im Sinne des Euler-Liljestrand-Mechanismus zugrunde. Durch die resultierende Blutdruckerhöhung kann Flüssigkeit in die Lunge und andere Organe austreten. Ein Ödem ist die Folge. Im Falle der Laserdruckeremissionen ist eher davon auszugehen, dass die Beladung mit Nanopartikeln zu einer Leckage führte; es ist ja bekannt, dass Nanopartikel gewebeängig sind. Im Falle einer Vasokonstriktion hätte man auch eine Abnahme des pulmonal-kapillären Blutvolumens erwartet, die sich vermutlich in einer deutlichen Änderung der Diffusionskapazität für CO hätte niederschlagen müssen. Die Tatsache, dass DLCO bei der Annahme eher ödemartiger Änderungen nicht verändert war, ist in der relativ geringen Sensitivität dieser Messgröße gegenüber Änderungen der Diffusionsbarriere bedingt; DLCO hängt stärker von der Menge des verfügbaren Hämoglobins ab (s.u.).

Alternativ ist daran zu denken, dass sich die eingeatmeten Aerosole nach der Deposition in der Lunge möglicherweise lösten bzw. ihre Komponenten sich auf der Oberfläche ausbreiteten und auf diese Weise den Durchtritt von inhalierten Gasen wie NO behinderten. Dies wäre durchaus denkbar, da es sich um Kondensatpartikel (Aerosole) aus der Gasphase und nicht um Feststoffpartikel handelte. Diese alternative Interpretation würde allerdings nichts an der Tatsache einer wenn auch sehr geringgradigen Gastransportstörung ändern, zumal inhaliertes NO als hervorragend geeignet gelten kann, um eine solche Störung zu detektieren. Insgesamt legt die Voruntersuchung nahe, die Änderung von DLNO und DLNO/VA, die nach HE- stärker als nach LE-Exposition ausfiel, für sich genommen als einen ödemartigen Effekt zu interpretieren. Es sei aber betont, dass dies gegenwärtig nicht mehr als eine nicht statistisch klar belegbare Hypothese darstellt, zu deren Bestätigung unabhängige Daten fehlen.



Die CO-Aufnahmekapazität, die zwar auch von den Diffusionsbarrieren, vor allem aber dem alveolo-kapillären Blutvolumen und verfügbaren Hämoglobin beeinflusst wird, war durch die Expositionen nicht signifikant verändert. Dies impliziert, dass keine messbare pulmonale Vasokonstriktion oder Vasodilatation aufgrund der Druckerexpositionen auftrat. Allerdings sind diese Werte, anders als die NO-Diffusionskapazität, von der Korrektur für Carboxyhämoglobin abhängig, mit deren Hilfe der CO-Gegendruck im Blut berücksichtigt wurde, der durch die Inhalation von CO in den Messungen vor Exposition unvermeidbar aufgebaut wurde. Dazu wurde die beste derzeit verfügbare Korrekturformel verwendet.

Die beobachtete Verminderung des Alveolarvolumens (VA) ist schwer interpretierbar und möglicherweise auf Arbeitsmängel im Sinne einer geringfügig reduzierten tiefen Einatmung vor dem Atemanhalten zurückzuführen. Ferner ist zu beachten, dass in der Vergangenheit, soweit bekannt, in anderen Laboratorien niemals mit der in dieser Studie erreichten Präzision im Tagesverlauf wiederholt gemessen wurde und daher Vergleichsdaten zur Beurteilung fehlen.

Die Absolutwerte der Diffusionskapazitäten hängen in nichtlinearer Weise vom Alveolarvolumen, d. h. dem Ausdehnungszustand der Lunge, ab. Aus diesem Grunde wurden sowohl die absoluten Werte (DLCO, DLNO) als auch die Werte pro alveolärem Volumen (DLCO/VA, DLNO/VA) ausgewertet. Letztere können im gegenwärtigen Fall als besonders glaubwürdig gelten, da bei einer Verringerung des Volumens aus physiologischen Gründen von einer relativen Zunahme der volumenbezogenen Werte auszugehen ist. Diese ist dadurch bedingt, dass sich bei einer um ein Geringes weniger tiefen Einatmung das Verhältnis von Oberfläche zu Volumen der Lunge verbessert sowie das pulmonal-kapilläre Blutvolumen im Wesentlichen gleich bleibt. Wenn also auch für die volumenbezogenen Werte der NO-Diffusionskapazität ein signifikanter Abfall beobachtet wurde, der zugleich tendenziell für die HE-Exposition stärker ausfiel als für die LE-Exposition, so spricht dies dagegen, dass die Abnahme der Absolutwerte durch eine Abnahme von VA bedingt war. Man hätte bei gleichbleibenden Transporteigenschaften eher eine Zunahme und nicht eine Abnahme von DLNO/VA erwartet.

Die Einschränkung der DLNO bzw. DLNO/VA ist im Prinzip als physiologisch adverser Effekt zu werten, der allerdings in dem beobachteten Ausmaß nicht als klinisch relevant gelten kann. Zu beachten ist auch, dass der Effekt unabhängig von der Probandengruppe auftrat und gemäß den Empfehlungen der ATS für Diffusionsmessgrößen 10% Abweichung als Testvariabilität noch als akzeptierbar gelten.[40] In der vorliegenden Studie war es offenbar möglich, so präzise zu messen, dass Änderungen im unteren einstelligen Prozentbereich statistisch signifikant erfassbar waren, die im Kontext klinischer Tests völlig im Bereich des biologischen und messtechnischen Rauschens gelegen hätten.

#### Biochemische Messgrößen in Blut und Nasensekret

Über alle Probanden gemittelt fand sich eine statistisch signifikante Zunahme von ECP im Serum nach HE- und LE-Exposition. Die Zunahme war nach HE-Exposition geringfügig stärker ausgeprägt, allerdings ohne statistisch belegbaren Unterschied zur LE-Exposition. Dies spricht *prima vista* dafür, dass endogen bedingte Änderungen über die Zeit und/oder das umfangreiche Messprogramm selbst einen Effekt auf die Messung des ECP hatten. Dass eine Emission anderer Komponenten als der Partikel, z.B. VOCs oder Ozon, die Effekte auf ECP in beiden Expositionen hervorrief, ist unwahrscheinlich (s.u.). Auch wenn der Unterschied

zwischen den Expositionen nur tendenziell bestand, sollte man im Prinzip auch die Möglichkeit in Betracht ziehen, dass die vom High Emitter abgegebenen Nanopartikel eine (zusätzliche) Entzündungsreaktion, begleitet von einer Degranulation eosinophiler Granulozyten, haben auslösen können.

Änderungen von ECP sind für andere Expositionsszenarien beschrieben, allerdings hauptsächlich, wie zu erwarten, solche allergischer Natur. Niggemann et al. [151] untersuchten unter anderem die Konzentration von ECP im Serum nach Allergenexposition im zeitlichen Verlauf. Nach bronchialer Provokation mit Hausstaubmilben-Allergen fanden sie bei Hausstaub-Allergikern binnen 30 Minuten einen schnellen Anstieg der ECP-Konzentration, gefolgt von einem raschen Abfall beinahe bis auf Ausgangsniveau in den folgenden 30 Minuten. In den darauffolgenden 10 Stunden stieg die Konzentration stetig an. Während der Akutphase allergischer Reaktionen nimmt die Anzahl der Eosinophilen und die Konzentration ihrer Enzyme im peripheren Blut zu; noch stärker ist der Anstieg in den Geweben, in denen die allergische Reaktion stattfindet.[152, 153] Für die Zahl der eosinophilen Granulozyten im Blut sind jedoch auch Schwankungen im Tagesverlauf beschrieben; so ist ihre Anzahl am Morgen am geringsten und am Abend am höchsten.[154] Obwohl dies der obigen Annahme einer endogen bedingten Änderung über die Zeit entspricht, würde es nicht einen potenziell vorhandenen, differentiellen Effekt von HE und LE erklären. In der LE-Bedingung wurde zudem ein signifikanter Anstieg nur bei Gesunden und Hyperreagiblen, nicht jedoch bei Asthmatikern oder Betroffenen detektiert. Dies erscheint ungewöhnlich und unterstreicht einmal mehr, dass die wiederholten statistischen Tests bei relativ kleinen Gruppen vermutlich zufälligen Schwankungen ausgesetzt waren. Verlässlich erscheinen in Anbetracht der Kleinheit der Änderungen nur die Analysen der Gesamtgruppe aller Probanden.

Ferner ist eine allergische Aktivierung für die Druckeremissionen schwer vorstellbar und schwerlich durch bekannte Mechanismen plausibel zu machen. Anstiege des ECP im Sputum wurden bei Asthmatikern nach Ozonexposition berichtet [155, 156], aber auch ozonassoziierte Anstiege von ECP in der Nasenflüssigkeit bei nichtallergischen Kindern [157]. Daten zum Serum sowie für Probanden ohne Asthma und Allergie liegen nicht vor. Hierbei ist zu beachten, dass in der Vergangenheit nur bei sehr hohen Ozonexpositionen andere als lokale Effekte in der Lunge beobachtet wurden und daher auch das Ergebnis der letztgenannten Studie kaum auf ECP im Serum zu übertragen sein dürfte.

Insgesamt lassen sich die beobachteten Änderungen von ECP im Serum daher nur schwer pathophysiologisch einordnen. Vor allem ist an eine circadiane Variation sowie an mögliche Aktivierungen von Leukozyten durch die Messungen selbst zu denken; ECP kann auch in neutrophilen Granulozyten gespeichert werden und könnte somit im Prinzip ebenfalls durch unspezifische Reize freigesetzt werden. Dies wäre auch eine mögliche Erklärung für die genannten Effekte einer Ozonexposition, die bekanntermaßen eine neutrophile Reaktion der Atemwege hervorruft. Für Nanopartikel wurden derartige neutrophile Reaktionen, jedenfalls in der für Ozon beobachteten Größenordnung, nicht beschrieben. Andererseits ist schwer zu begreifen, dass die Atemmanöver der Lungenfunktionsmessungen, das Einlegen der Baumwolltupfer in die Nase oder die psychometrischen Tests eine Änderung im ECP-Spiegel des Serums hätten hervorrufen könnten. Der Hinweis, dass die Testergebnisse in den Subgruppen heterogen waren und möglicherweise zufällige Schwankungen widerspiegeln, schließt ebenfalls

nicht aus, dass im Prinzip nicht antizipierte und *prima vista* unplausibel erscheinende Effekte tatsächlich auftreten könnten. Somit bleiben die Änderungen des ECP im Serum nur als derzeit nicht interpretierbares Phänomen zu konstatieren, das zugleich keinen statistisch absicherbaren Unterschied zwischen den beiden Expositionsszenarien ergab.

Analoges gilt für die Änderung des Gesamt-IgE. Möglicherweise schwankt die im Serum verfügbare IgE-Konzentration durch veränderliche Bindung an Proteine bzw. Zelloberflächen im Tagesverlauf, jedoch in so geringem Maße, dass dieser Effekt klinisch irrelevant ist.

Der Anstieg von  $\text{H}_2\text{O}_2$  im Atemkondensat in beiden Visiten war ebenfalls vermutlich entweder durch eine circadiane Veränderung und/oder durch die vorangegangenen Atemmanöver bedingt. Die Wahrscheinlichkeit, dass die Änderungen in Zusammenhang mit nicht restlos ausgefilterten Raumluft-Konzentrationen standen, erachten wir als sehr gering. Gleiches gilt für ein in der Nachweismethode liegendes Problem trotz Optimierung der Analyse. Die Tatsache, dass keine konsistenten Effekte im Sinne eines oxidativen Stresses im Serum mittels der Analyse von 8-OHdG nachgewiesen werden konnten, korrespondiert dem negativen Befund für die Ausatemluft.

Der Nachweis einer Entzündungsreaktion nach Exposition gegenüber Laserdruckeremissionen sollte auch in der Nase möglich sein, da die Partikel als Erstes auf der Nasenschleimhaut auftreffen. Auf dem Weg in tiefere Regionen des Atmungstraktes werden dann weitere Partikel an den Schleimhäuten abgeschieden. Nur ein Teil der Raumluftkonzentration gelangt bis in die Alveolen. In beiden Visiten, d. h. nach Exposition gegenüber LE und HE, kam es zu einem Anstieg der Konzentration von nasalem IL-6. In der Pilotstudie von Luszpinski [84] wurde bereits ein Anstieg von IL-6 im Nasensekret nach HE-Exposition beobachtet. Sim et al. [158] fanden bei Allergikern vier Stunden nach Antigenprovokation einen Anstieg von IL-6 und GM-CSF im Nasensekret. Das proinflammatorische IL-6 wird vor allem von Monozyten und Makrophagen sezerniert. Für die IL-6-Spiegel im Serum ist ein biphasischer 12-Stunden-Rhythmus bekannt [159]. Je nach Studie variiert die Uhrzeit, zu der die höchsten bzw. niedrigsten Werte auftraten, die Tageszeiten stimmten jedoch überein. Nachts wurden die höchsten Werte gemessen; diese sanken vormittags und erreichten abends nochmals einen Peak. Sothorn et al. [160] beobachteten die höchsten Werte wenige Stunden nach Mitternacht und die niedrigsten um 10:00 Uhr. In der Untersuchung von Vgontzas et al. [161] waren die Minima um 08:00 und 21:00 Uhr erreicht, die Maxima um 19:00 und 05:00 Uhr. Die circadiane Rhythmik von IL-6 im Urin ist ebenso biphasisch mit abweichenden Peaks. Messungen von Sothorn et al. [162] zeigten, dass hier die Werte tagsüber am höchsten waren, mit einem Maximum um 17:30 Uhr und einem kleineren Peak um 08:30 Uhr. Der Nadir war in dieser Studie um 23:30 Uhr erreicht.

Für das Nasensekret gibt es bislang keine Untersuchungen zur möglichen circadianen Rhythmik von IL-6. Da tageszeitliche Schwankungen des Zytokins in Blut und Urin bekannt sind, kann jedoch davon ausgegangen werden, dass es auch im Nasensekret solche Schwankungen gibt. Der Anstieg der Konzentration von IL-6 in beiden Visiten wäre hierdurch erklärbar. Eine andere Hypothese ist, dass das Einlegen der Watte in den mittleren Nasengang vor den Expositionen bereits eine in ihre Effekten persistierende lokale Schleimhautreizung hervorrief. Im Rahmen der folgenden Reaktion würden dann jedoch vermutlich auch andere Zytokine und Chemokine

vermehrt sezerniert; dies wurde nicht beobachtet. Dies schließt allerdings nicht aus, dass es sich um einen für IL-6 spezifischen Effekt handelte.

Generell muss davon ausgegangen werden, dass Änderungen, die nach beiden Expositionen auftraten (DLNO, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, NIL-6), methodologische Effekte im Sinne von Tagesschwankungen sein könnten oder durch andere Faktoren als die emittierten Nanopartikel ausgelöst wurden. So emittieren Laserdrucker zum einen in geringen Mengen auch flüchtige Kohlenwasserstoffe (VOCs), die diese Parameter beeinflussen könnten. Allerdings gibt es aus der Charakterisierung der Drucker keine Hinweise darauf, dass diese Expositionen in relevanter Höhe erfolgt sein könnten; Gleiches gilt für emittiertes Ozon. Zum anderen kam es im Zeitverlauf der Exposition zu einem Temperaturanstieg von im Mittel 6 °C in der Kammer. Ob und wie sich dieser auf die untersuchten Parameter auswirken könnte, ist unklar. Am ehesten in Zusammenhang mit der Partikelanzahlkonzentration und nicht der Temperatur wäre sicher das Ausmaß der Änderung von DLNO zu sehen.

Die Änderungen der Zytokinkonzentrationen in den einzelnen Gruppen sind schwer zu beurteilen. SIL-5 war nach HE nur bei 7 der 24 nicht hyperreagiblen Probanden überhaupt nachweisbar. Der Anstieg des Wertes in dieser Gruppe ist durch die geringe Zahl der Messwerte nicht aussagekräftig. Während die Konzentration von NIL-6 in allen Gruppen anstieg (s.o), nahm diejenige von SIL-6 nach LE bei Asthma-Probanden und Hyperreagiblen leicht ab. Es handelt sich jedoch um Änderungen im einstelligen µg-Bereich; außerdem sind, wie zuvor beschrieben, circadiane Schwankungen bekannt. Bei NIL-1β und NGM-CSF kam es in der Gruppe der nicht hyperreagiblen Probanden nach LE zu einer Zunahme der Konzentration im zweistelligen µg-Bereich. Die Ausschüttung dieser Zytokine stellt eine Antwort des Organismus auf Fremdeinflüsse dar. Weshalb eine signifikante Erhöhung der Werte allerdings nur in der Gruppe der nicht hyperreagiblen Probanden gemessen wurde, ist unklar. Auch hier ist die Multiplizität der Tests bei kleinen Gruppen und die damit verbundene Möglichkeit falsch-positiver Tests in Rechnung zu stellen.

## II Unterschiede der Probandengruppen

Der Einschluss von drei bzw. vier verschiedenen Probandengruppen in diese Studie sollte die bestmögliche Chance bieten, gesundheitliche Effekte von Laserdruckeremissionen beim Menschen nachzuweisen. Bei den Betroffenen sollten die geschilderten Beschwerden mit klinischen Untersuchungen belegt werden. Asthma-Probanden gelten als besonders sensibel gegenüber verschiedenen Umwelteinflüssen. So war es denkbar, dass sie auch überproportionale Reaktionen auf die Laserdruckeremissionen zeigen würden. Die Gesunden dienten als Kontrollgruppe, in der am wenigsten mit dem Auftreten von Symptomen zu rechnen war. Diese drei Hauptgruppen wurden noch durch die Unterteilung in hyperreagible und nicht hyperreagible Probanden erweitert, um zu eruieren, ob bronchiale Hyperreagibilität ein Risikofaktor für das Auftreten von Beschwerden und Effekten war.

Personen aus der Gruppe der Betroffenen waren durchschnittlich älter als die Teilnehmer der anderen Gruppen. Dies könnte damit erklärt werden, dass Beschwerden erst nach einigen Jahren beruflicher Tätigkeit auftreten oder der Zusammenhang erst nach längerer Zeit von den Probanden angenommen wird.

Im Prinzip sind zwei Kurzzeit-Wirkungen der Laserdruckeremissionen denkbar: physische und psychische. Für den Probanden spürbare, in spezifischen Symptomen sich äußernde physische Effekte wie eine signifikante Atemwegsobstruktion oder Gasaustauschstörung wurden in der vorliegenden Studie nicht beobachtet.

Die Probanden mit Asthma schilderten die meisten Symptome vor Exposition, fühlten sich nach Exposition aber besser (Abbildung 37). Dies könnte auf einen Entspannungseffekt des Aufenthaltes in der Expositions-kammer zurückzuführen sein. Es ist bekannt, dass Asthma-Patienten in Ruhephasen eine leichtgradige Bronchodilatation erfahren können [163, 164]. Außerdem ist bekannt, dass diese Patienten am frühen Morgen die schlechtesten, am Nachmittag die besten Peak-Flow-Werte erreichen. Auch bei den teilnehmenden Asthma-Patienten kam es im Tagesverlauf zu einer leichten Abnahme des spezifischen Atemwegswiderstandes und einer minimalen Zunahme des forcierten Einsekundenvolumens; beide Änderungen waren jedoch nicht statistisch signifikant.

Die Konzentration des Gesamt-IgE im Serum stieg bei den Probanden mit Asthma in beiden Visiten signifikant an, wobei der Anstieg nach HE-Exposition numerisch, aber nicht statistisch signifikant größer ausfiel. Nach HE-Exposition unterschieden sich die Asthma-Probanden von den Gesunden. Denkbar wäre hier vor allem ein circadianer Rhythmus unabhängig von der Exposition, da die Neusynthese von Immunglobulinen mehrere Tage in Anspruch nehmen würde. Gaultier et al. [165] beschrieben einen circadianen Rhythmus bei Kindern mit Asthma. Auch bei älteren Personen wurden Tagesschwankungen beobachtet [166], nicht jedoch in der Durchschnittsbevölkerung [167]. Die Werte stiegen nach HE-Exposition zwar stärker an, der Unterschied betrug im Mittel jedoch nur 1,9 kU/L. Der höchste bei einem der Asthma-Probanden gemessene Gesamt-IgE-Wert lag bei 456 kU/L. Der Unterschied könnte ebenso aufgrund der erwähnten Tagesschwankungen aufgetreten sein.

Der Gruppenvergleich ergab, dass bei Personen, die anamnestisch Beschwerden im Umgang mit Laserdruckern äußerten, nicht mehr klinische Veränderungen messbar waren als bei Teilnehmern aus anderen Gruppen. Der einzige Parameter, in dem sich die Betroffenen signifikant von den beiden anderen Gruppen unterschieden, war (das nasale) NIL-6. Dieses Interleukin stieg bei den Betroffenen nach LE-Exposition signifikant stärker an als bei den Asthma-Probanden. Auch in der HE-Visite zeigten die Betroffenen den stärksten Anstieg, der Unterschied war jedoch nicht statistisch signifikant. Da für den Anstieg von IL-6 auch irritative Ursachen in Frage kommen (s.o.), ist es denkbar, dass die Nasenschleimhaut der Betroffenen sensibler auf mechanische Reizungen wie das Einlegen der Watte reagiert und schneller ein Entzündungsprozess in Gang gesetzt wird. Die in den Fragebögen geschilderten somatischen Beschwerden (siehe Abbildung 36) fanden keine Bestätigung in den Funktionsuntersuchungen.

Im Vorfeld der Studie bestand die Überlegung, dass Personen mit unspezifischer bronchialer Hyperreagibilität verstärkt auf Laserdruckeremissionen reagieren könnten und möglicherweise Änderungen der Lungenfunktion zeigen würden. Dies war nicht der Fall. Nur tendenziell bei NIL-1ß nach LE-Exposition und statistisch signifikant bei SIL-5 nach HE-Exposition fand sich ein Gruppenunterschied zwischen Probanden mit und ohne bronchiale Hyperreagibilität. Bei SIL-5 in der HE-Exposition war für die nicht Hyperreagiblen im Mittel eine stärkere Zunahme messbar. SIL-5 ist an der Entstehung einer eosinophilen Entzündung beteiligt, die man bei Allergikern, also eher hyperreagiblen Probanden findet. Bei all diesen Vergleichen ist angesichts der Auswahl mehrerer Gruppen und einer großen Zahl von Messgrößen zu beachten, dass viele multiple Vergleiche durchgeführt wurden, für die die Irrtumswahrscheinlichkeit nicht angepasst werden konnte, ohne zu unrealistisch kleinen p-Werten zu gelangen. Daher ist auch bei statistisch signifikanten Effekten immer mit der Möglichkeit falsch-positiver Bewertungen zu rechnen.

In Hinsicht auf die psychologischen und psychometrischen Aspekte ergaben sich keine konsistenten Hinweise auf differenzielle Wirkungen unterschiedlicher Emissionshöhen auf die erfassten Variablen. Vielmehr scheint ein Großteil der Befunde – insbesondere diejenigen, bei denen (kognitive) psychologische Mechanismen wie die Wahrnehmung, Ursachenzuschreibung und Bewertung relevant sind (vgl. auch Bullinger [168]; für einen aktuellen Studienüberblick Dalton & Jaén [169]) – darauf zurückzuführen zu sein, dass die Gruppe der Betroffenen anders auf die Expositionssituation reagiert als Gesunde oder Asthmatiker. So ist etwa nach dem transaktionalen Stressmodell von Lazarus und Folkman (vgl. [170]) denkbar, dass aufgrund des unterschiedlichen persönlichen Hintergrunds die Betroffenen die gesamte Expositionssituation als Bedrohung erlebten und mit entsprechendem Stress reagierten, während Gesunde und Asthmatiker die Situation als irrelevant oder als Herausforderung sahen.

## E Zusammenfassung

### Auflistung der Ergebnisse

- Bei 23 anamnestisch gesunden Personen (Kontrolle), 14 Personen mit einem leichtgradigen Asthma bronchiale in stabilem Zustand, sowie 15 Personen mit anamnestischen Beschwerden im Umgang mit Laserdruckern (Betroffene) wurden Symptome, Funktionsänderungen, biochemische Reaktionen und psychometrische Kenngrößen vor und nach kontrollierten Expositionen gegenüber Laserdruckeremissionen erfasst.
- Die Studie beinhaltete zum ersten ein Teilprojekt, in dem verschiedene Laserdrucker verglichen wurden, um die bei den Expositionen zu verwendenden Drucker auszuwählen und hinsichtlich ihrer Emissionen zu charakterisieren. Der Expositionsraum wurde aerosoltechnisch vermessen, und die technischen Randbedingungen der Expositionen wurden optimiert und standardisiert. Während der Expositionen der Probanden wurden die Raumluftbedingungen sowie Aerosolkenngößen erfasst, um die Vergleichbarkeit sicher zu stellen.
- Die für die Exposition geeigneten und verwendeten Drucker mit entweder sehr niedriger Emission von Nanopartikeln (Low Emitter, LE) oder sehr hoher Emission (High Emitter, HE) konnten identifiziert werden. Es ließ sich zeigen, dass die Expositionsbedingungen und -höhe im Raum reproduzierbar und über die Expositionszeit hinreichend stabil waren. Lediglich die Temperatur zeigte einen Anstieg über die Zeit, da die Lüftung des Raumes abgeschaltet werden musste, um die Aerosolkonzentration konstant hoch zu halten. Die mittleren Konzentrationen unter HE-Bedingungen lagen in der Größenordnung von 100.000 Partikeln pro  $\text{cm}^3$ , während sie unter LE-Bedingungen im Bereich des umgebungsbedingten Rauschens (ca. 2000-4000 pro  $\text{cm}^3$ ) lagen.
- Der zweite Teilprojekt umfasste die Erhebungen an den Probanden. In einer Vorstudie an 20 separaten Probanden wurden als besonders wichtig und sensitiv erachtete Messgrößen daraufhin geprüft, welche Änderungen sie auf definierte Reize zeigten. Hierzu wurden die Inhalation von hypertoner Kochsalzlösung sowie die Gabe von Sauerstoff verwendet. Es zeigte sich, dass sich die Diffusionskapazität (DLNO) für inhaliertes Stickstoffmonoxid (NO), weniger hingegen die konventionelle Diffusionskapazität für Kohlenmonoxid (CO) nach Kochsalzinhalation geringgradig reduzierte; dies wurde als Hinweis darauf gewertet, dass mit dieser Messgröße Gastransportstörungen aufgrund von Änderungen des pulmonalen Flüssigkeitshaushaltes sensitiv erfasst werden können.
- Die Expositionsstudie umfasste eine Einschlussvisite, in der die klinischen Charakteristika der Probanden erfasst wurden und diese alle wesentlichen Messungen einmal absolvierten, um mit den Abläufen bekannt zu werden und um Ausgangswerte zu gewinnen. Ferner erfolgte eine inhalative Methacholin-Provokation, um die Möglichkeit zu haben, die Probanden zusätzlich nach dem Vorliegen eines hyperreagiblen Bronchialsystems zu stratifizieren. Auch wurden die psychologischen Merkmale der Probanden hinsichtlich Affektivität und Geruchssensitivität erhoben.
- Die beiden Expositionen erfolgten in zufälliger Reihenfolge; ihre effektive Dauer betrug 75 Minuten. Die Messungen und Erhebungen erfolgten vor bzw. zu Beginn sowie nach den bzw.

zu Ende der Expositionen. Diese umfassten eine Spirometrie, Bodyplethysmographie, Messung der Diffusionskapazität für CO und NO, Messung des exhalieren CO, Messung des exhalieren NO bei 4 Ausatemraten zwecks Bestimmung des bronchialen und alveolären NO, Messung des exhalieren Wasserstoffperoxids ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) im Atemkondensat, Blutentnahmen, Gewinnung von Nasensekret mittels eingelegter Baumwollstreifen, Fragebögen zu Symptomen und Befindlichkeit, sowie d2-Test, Labyrinth-Test und Benton-Test als psychometrischen Untersuchungen zur kognitiven Leistungsfähigkeit.

- Die Rekrutierung der Betroffenen erwies sich als aufwändig; dennoch konnten 15 Personen zur Teilnahme gewonnen werden. Die Expositionstests begannen im April 2012 und endeten im Mai 2013. Die folgenden Darstellungen der Ergebnisse fokussieren auf statistisch signifikante Veränderungen.
- Über alle Probanden ausgewertet fanden sich keine statistisch signifikanten Änderungen in Spirometrie und Bodyplethysmographie nach beiden Expositionen.
- Das mittels Helium-Verdünnung gemessene alveoläre Volumen (VA) nahm nach beiden Expositionen geringfügig ab: Gleiches traf auf die Diffusionskapazitäten für NO und CO zu, ferner auf die volumenbezogene Diffusionskapazität für NO (DLNO/VA), nicht jedoch auf diejenige für CO. Die Änderung in DLNO/VA fiel nach HE-Exposition stärker und konsistenter aus als nach LE-Exposition, jedoch war der Unterschied zwischen beiden Effekten nicht statistisch signifikant.
- Die Analyse der funktionellen Änderungen, aufgeschlüsselt nach den einzelnen Gruppen der Probanden ergab kein konsistentes Bild, insbesondere nicht in Hinsicht darauf, dass die beobachteten Änderungen wesentlich den Gruppen der Betroffenen, Asthmatiker oder Hyperreagiblen hätten zugeordnet werden können. Der statistisch signifikante Anstiegs des spezifischen Atemwegswiderstandes  $sR_{\text{tot}}$  bei den Gesunden nach HE-Exposition war sehr gering und verblieb im Normbereich.
- Weder das bronchiale noch das alveoläre exhalierte NO zeigten statistisch signifikante Änderungen nach den Expositionen. Wasserstoffperoxid zeigte einen signifikanten Anstieg für beide Expositionen, ohne statistisch belegbaren Unterschied zwischen ihnen.
- Die Analyse des Serums ergab einen signifikanten Anstieg der Konzentration des eosinophilen kationischen Proteins (ECP) nach HE-, sowie LE-Exposition, tendenziell höher nach HE-Exposition, jedoch ohne signifikanten Unterschied zwischen beiden Änderungen. Der Spiegel des Gesamt-IgE war nach beiden Expositionen geringfügig, aber statistisch signifikant erhöht. Für die Konzentrationen verschiedener Zytokine im Serum (IL-1 $\beta$ , IL-5, IL-6, IL-8, GM-CSF, IFN $\gamma$ , TNF $\alpha$ ) ergaben sich keine signifikanten bzw. klar interpretierbaren Effekte der Expositionen.
- Im Nasensekret wurden IL-1 $\beta$ , IL-5, IL-6, IL-8, GM-CSF, IFN $\gamma$  und TNF $\alpha$  gemessen; In der Gesamtgruppe fand sich ein statistisch signifikanter Anstieg von IL-6 nach beiden Expositionen, der tendenziell stärker nach LE- als nach HE-Exposition ausfiel, jedoch ohne statistisch belegbaren Unterschied.
- Die Zusammenschau der Änderungen der biochemischen Marker in Ausatemluft, Nasensekret und Serum lieferte keine konsistenten Hinweise darauf, dass sich die Gruppen der Betroffenen, Asthmatiker oder Hyperreagiblen durch Unterschiede in der Reaktion auf Druckermissionen auszeichneten.



- Die psychologischen Merkmale Affektivität und chemische Geruchssensitivität zeigten ein durchgängiges Muster, indem Gesunde den geringsten negativen Affekt, den höchsten positiven Affekt und die geringste chemische Geruchssensitivität aufwiesen und sich damit jeweils signifikant von den Asthmatikern und den Betroffenen unterschieden. Letztere Gruppen unterschieden sich hinsichtlich dieser Merkmale nicht. Die chemische Geruchssensitivität war in der Gruppe der Betroffenen höher ausgeprägt und in der Hälfte der Fälle als selbstberichtete multiple Chemikaliensensitivität (sMCS) zu bezeichnen. Bei der Unterteilung in Hyperreagible versus nicht Hyperreagible ergaben sich keine Unterschiede in den psychologischen Merkmalen.
- Die Wahrnehmung der Situation durch die Teilnehmer war dadurch ausgezeichnet, dass die Betroffenen generell die stärksten Reaktionen zeigten. Unabhängig vom Expositionsniveau gaben die Betroffenen das geringste Wohlbefinden, die stärkste Geruchsbelästigung und die höchste Belästigung durch den Druckvorgang an. Die Stärke des Geruchs wurde tendenziell höher beim HE als beim LE eingeschätzt, die Bewertung war aber auch insgesamt höher als in den anderen Gruppen. Beim Vergleich der Hyperreagiblen mit den nicht Hyperreagiblen ergaben sich keine signifikanten Unterschiede der Situationswahrnehmung.
- Die Einschätzungen der Symptome spielten sich auf einem sehr geringen Wertenniveau ab. Über alle Symptome und Probandengruppen hinweg fand sich tendenziell eine höhere Zunahme der Symptome in der HE-Bedingung als in der LE-Bedingung, die jedoch wesentlich bestimmt war durch eine deutliche Zunahme der Augensymptome bei den Betroffenen. Jenseits dieses Befundes ergaben sich so gut wie keine Hinweise auf differenzielle Effekte der beiden Expositionstypen. Im Allgemeinen waren die höchsten Anstiege der Symptome nach den Expositionen bei den Betroffenen zu finden; die durchgängig stärksten Veränderungen traten für Augensymptome (Reizung der Augen) auf, in Übereinstimmung mit der anamnestischen Befragung der Betroffenen. Allerdings ist ein ursächlicher Zusammenhang mit der Testsituation als solcher unabhängig von den Druckeremissionen denkbar.
- Hinsichtlich ihrer kognitiven Leistungsfähigkeit repräsentierten die Betroffenen im Wesentlichen den altersadjustierten Bevölkerungsdurchschnitt. In den objektiven kognitiven Leistungstests ergaben sich nur wenige systematische Effekte, die größtenteils schwach ausgeprägt waren. Dies umfasste begrenzte Hinweise darauf, dass in der Betroffenenengruppe eine Zunahme der Kurzzeitgedächtnisleistung auftrat sowie der Anzahl der gelösten Labyrinth in der LE-Bedingung, hingegen eine Abnahme dieser Leistungen in der HE-Bedingung. Diese Befunde beruhen allerdings auf einer vergleichsweise hohen Spreizung der Werte der Betroffenen bereits in der Vorhermessung, so dass eine eindeutige Interpretation nicht möglich ist. Die Aufteilung nach bronchial hyperreagiblen und nicht hyperreagiblen Probanden ergab erneut so gut wie keine systematischen und belastbaren Befunde, insbesondere keine differenziellen Effekte der Expositionsbedingung.

### Bewertung

In einem Raum mit abgeschalteter Lüftung erfolgten kontrollierte, standardisierte Expositionen von 75 Minuten Dauer gegenüber entweder sehr hohen oder sehr niedrigen Konzentrationen von UFP, die von ausgewählten Laserdruckern emittiert wurden. Untersucht wurden neben Betroffenen und Kontrollpersonen auch Asthmatiker, da bei diesen die Wahrscheinlichkeit für

adverse Reaktionen erhöht sein sollte. Die Partikelkonzentration der hohen Exposition repräsentierte zweifelsohne ein worst-case-Szenario unter Bürobedingungen (ca. 100.000 Nanopartikel pro  $\text{cm}^3$ ). Zur Erfassung der Effekte wurden funktionelle, biochemische sowie psychologische bzw. psychometrische Methoden eingesetzt, darunter sowohl konventionelle als auch avancierte und teils eigens für die Studie optimierte Messverfahren. Die ausgewählten Methoden sollten möglichst viel von den Beschwerden abdecken, die von betroffenen Personen typischerweise berichtet werden, bei Probanden mit hinlänglicher Sicherheit experimentell prüfbar sind und mit messbaren Änderungen physiologischer, biochemischer oder psychologischer Größen auf plausible Weise in Zusammenhang gebracht werden können. Das Spektrum der eingesetzten Methoden wurde im Nachhinein durch die von den Probanden bei Exposition berichteten Beschwerden gerechtfertigt, die den anamnestischen Befunden und Erwartungen entsprachen.

Nach Exposition gegenüber Laserdruckeremissionen wurde eine Reihe von Änderungen beobachtet. Diese traten allerdings in der Regel nach beiden, d.h. sehr hohen wie sehr geringen, Expositionen auf und ließen nicht in konsistenter Weise auf eine spezifische Sensitivität der Gruppen der Betroffenen oder der Asthmatiker schließen. Als Interpretation liegen neben einer circadianen Variation der Messwerte unvermeidbare Nebeneffekte der Expositionssituation selbst bzw. der eingesetzten Messverfahren nahe. Die gemessenen Effekte waren durchgehend klein bis sehr klein und zumeist nur bei Analyse der Gesamtgruppe der Probanden statistisch abzusichern. Auch ist zu beachten, dass die Analysen der einzelnen Gruppen angesichts der geringen Größe der Änderungen und Vielzahl der statistischen Tests durch zufällige Änderungen affiziert sein kann und daher die Ergebnisse mit Vorsicht zu interpretieren sind. Ungeachtet dessen unterstreichen die beobachteten Änderungen die hohe Messgenauigkeit, da sie in der Regel deutlich unter allgemein akzeptierten Grenzen der Variabilität und klinischen Relevanz von Messwerten und ihren Änderungen lagen; es erscheint bemerkenswert, dass die Änderungen überhaupt erfassbar waren.

Relevante, klar auf die Druckersituation mit hoher Emission zurückführbare Änderungen der spirometrisch und bodyplethysmographisch erfassten Lungenfunktion traten nicht auf.

Gleiches galt für nichtinvasive bzw. wenig invasive Messgrößen des oxidativen Stress bzw. der Entzündung in den Atemwegen und schloss die Analyse des Nasensekrets ein. Hierbei fand sich für die Konzentration eines Eosinophilenmarkers (ECP) im Serum ein Anstieg nach niedriger und hoher Exposition, der in den Gruppen verschieden ausgeprägt war. Der Anstieg war zwar tendenziell nach hoher Belastung stärker, jedoch nicht in statistisch abzusichernder Weise. Analoges galt für das Gesamt-IgE. Damit bleibt die Hypothese, dass eine hohe Belastung mit laserdruckerassoziierten Partikeln eine zelluläre Aktivierung im Blut auslösen könnte und Effekte nicht zwingend nur lokal in den Eintrittsorganen stattfinden müssen, spekulativ und nicht durch die erhobenen Daten belegbar. Vermutlich handelte es sich um einen tagesperiodischen oder methodologisch bedingten Effekt. Die Beobachtung dieses Effektes rechtfertigt das cross-over-Design der Studie mit zwei Expositionen pro Proband. Sie rechtfertigt ebenso den hohen, weit über die Erfassung von respiratorischen Parametern und Symptomen hinaus gehenden Messaufwand, indem auch derartige, in Einzelexpositionen möglicherweise fälschlich als druckerbedingt interpretierte Änderungen erfasst wurden. Analog sind die für IL-6 im Nasensekret beobachteten parallelen Änderungen nach beiden Expositionen

schwer interpretierbar und waren vermutlich methodologisch durch die wiederholte Probennahme bedingt.

Auch die Messung der Diffusionskapazität der Lunge für NO zeigte geringe, aber statistisch signifikante Änderungen für beide Expositionsszenarien im Sinne einer Gastransportstörung; zwar ergab die nähere Analyse einen Hinweis darauf, dass die Effekte über alle Probanden für die hohe Exposition stärker ausfielen, dieser war aber nicht statistisch absicherbar. Bei der Interpretation scheinen die Ergebnisse einer Voruntersuchung hilfreich, in der mittels Einatmung von hypertoner Kochsalzlösung offenbar eine solche Transportstörung induziert und detektiert werden konnte. Dies würde bedeuten, dass eine sehr hohe Belastung mit Partikeln aus Laserdruckern möglicherweise den Flüssigkeitshaushalt oder die Oberflächeneigenschaften der Alveolen stört und so zu einer zwar klinisch vermutlich nicht relevanten, aber durch avancierte Verfahren detektierbaren Gastransportstörung führen kann. Es sei aber betont, dass in Abwesenheit anderer, mit unabhängigen Messverfahren erhobener Daten dies gegenwärtig nicht mehr als eine pathophysiologisch interessante Spekulation darstellt. Dies gilt auch deshalb, weil man bei einer derartigen Störung vermutlich auch einen Effekt auf das – allerdings sehr diffizil zu messende und möglicherweise nicht genügend sensitive – alveolär abgeatmete NO erwartet hätte; ein solcher Effekt trat aber nicht auf. Daher ist eine eindeutige Interpretation derzeit nicht möglich.

Für die psychologischen und psychometrischen Messgrößen ist festzuhalten, dass sich kaum Hinweise auf differenzielle Wirkungen der unterschiedlichen Expositionsniveaus auf die erfassten Variablen ergaben. Vielmehr ist ein Großteil der Befunde, insbesondere diejenigen, bei denen (kognitive) psychologische Mechanismen wie die Wahrnehmung, Ursachenzuschreibung und Bewertung relevant sind, wohl darauf zurückzuführen, dass die Gruppe der Betroffenen anders auf die Expositionssituation reagiert als Gesunde oder Asthmatiker. So ist gemäß transaktionalen Stressmodellen denkbar, dass aufgrund des unterschiedlichen persönlichen Hintergrunds, der sich auch in den erfassten Personenmerkmalen widerspiegelte, die Betroffenen die gesamte Expositionssituation als Bedrohung erlebten und mit entsprechendem Stress reagierten, während Gesunde und Asthmatiker die Situation als irrelevant oder als Herausforderung sahen.

Somit ließen sich in der vorliegenden Studie nach 75-minütiger Exposition gegenüber sehr hohen Laserdruckeremissionen in der überwiegenden Zahl der Messgrößen keine objektivierbaren und nur in sehr wenigen Parametern der Tendenz nach geringe differenzielle, jedoch nicht konsistente und zwischen den Expositionen unterschiedliche Effekte auf verschiedene Organsysteme nachweisen. Dies traf auch auf Personen mit Asthma oder mit anamnestischen Beschwerden im Umgang mit Laserdruckern zu.

Selbstverständlich weist diese Studie wie jede andere Einschränkungen auf. So ist klar, dass von einem Kurzzeitszenario nur sehr begrenzt Extrapolationen auf eine Langzeitexposition möglich sind, da theoretisch sowohl Adaptationseffekte als auch kumulierende Effekte auftreten können. Beispielsweise lässt sich die Frage nach der Entstehung von Tumoren bei Langzeitexposition des Menschen schwerlich experimentell handhaben. Ebenso lässt sich keine Aussage darüber treffen, ob die Expositionen Auswirkungen auf Organsysteme hatten, die in dieser Studie nicht untersucht wurden. Darüber hinaus ist im Prinzip nicht auszuschließen, dass

verzögerte Effekte hätten auftreten können, die erst mit Tagen Abstand messbar werden. Allerdings wurde bei der Auswahl der Messgrößen darauf geachtet, solche zu wählen, für die kurzzeitige Effekte möglich oder sogar wahrscheinlich erscheinen. Ferner konnten eine mögliche individuelle Disposition, die unabhängig von der Gruppeneinteilung bestehen könnte, bzw. eine inhalative oder anderweitige, möglicherweise die Reaktion beeinflussende individuelle Belastung vor den Expositionen nicht bzw. nicht mit hinreichender statistischer Aussagekraft untersucht werden. Die Detektion solcher Effekte erfordert, falls sie in Anbetracht der Kleinheit der Effekte und der Heterogenität der Personen schlüssig sein soll, die wiederholte Untersuchung der gleichen Probanden unter sowohl identischen als auch variierten Bedingungen; dies konnte im Rahmen dieser Studie nicht geleistet werden. Darüber hinaus ist das Spektrum möglicher unabhängiger und moderierender Einflussgrößen in diesem Bereich so groß, dass Untersuchungen ohne Einschränkung auf bestimmte Organsysteme kaum denkbar sind. Ungeachtet dessen engen die Ergebnisse der Studie den Raum der in plausibler Weise anzunehmenden oder zu behauptenden Effekte einer kurzzeitigen hohen Exposition gegenüber Laserdruckeremissionen bedeutend ein. Dies gilt umso mehr, da wir darauf abzielten, akute Effekte zu objektivieren, deren korrespondierende Symptome von einer Vielzahl von Betroffenen tatsächlich angegeben werden.

Gestützt auf diese Ergebnisse ist nach unserer Auffassung die hohe Kurzzeit-Exposition in der Art und Weise, wie sie erfolgte, aus klinischer Perspektive nicht als besorgniserregend einzustufen. Die beobachteten sehr geringen Effekte und nicht statistisch signifikanten Unterschiede zwischen den Expositionen sind teils physiologisch und methodologisch von Interesse, können aber nach unserer Auffassung nicht mit gutem Grund als klinisch relevant deklariert werden. Diese Aussagen gelten, obwohl Personen untersucht wurden, die man aus anamnestischer und/oder physiologischer Sicht als besonders sensitiv gegenüber Laserdruckeremissionen ansehen würde. Bei allen Einschränkungen, die eine klinisch-experimentelle Untersuchung notwendigerweise aufweist, sprechen die Ergebnisse dieser auf einem breiten Spektrum potenzieller Effekte, Messverfahren und Probanden basierten Studie nicht dafür, dass die Exposition gegenüber einer hohen Konzentration von Laserdruckeremissionen einen objektivierbaren Krankheitsprozess auf den Weg bringt, der mit dem Spektrum der berichteten laserdruckerassoziierten Erkrankungen korreliert. Ungeachtet dessen erscheinen Maßnahmen zur Expositionsreduktion und -vermeidung sinnvoll, um Belästigungen durch den Druckerbetrieb soweit als möglich zu verringern und insbesondere bei Betroffenen den Leidensdruck zu vermindern, den die psychologischen Befunde der Untersuchung unabhängig von der Expositionshöhe unterstreichen.

## **G Anhang**



## I Tabellen zu den klinisch-physiologischen Ergebnissen

Tabelle 15a: Gesamtgruppe sowie Einzelgruppen im Vorher-Nachher-Vergleich (Mittelwerte und Standardabweichungen, für Mediane und Quartile siehe Tabelle 15b)

<b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> µmol/µl</b>		ALLE	GES	AST	BET	HYP	NHYP
LE	n	22	4*	8	10	13	9
	mittlere Änd.	0,19	0,27	0,12	0,21	0,16	0,23
	SD ±	0,23	0,37	0,10	0,24	0,18	0,29
	p	<0,001	0,24	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05
HE	n	18	3*	6	9	12	6
	mittlere Änd.	0,15	0,25	0,13	0,12	0,14	0,16
	SD ±	0,14	0,27	0,08	0,13	0,12	0,20
	P	<0,001	0,25	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05
<b>NO<sub>bro</sub> [ppb]</b>		ALLE	GES	AST	BET	HYP	NHYP
LE	n	41	13	14	14	25	16
	mittlere Änd.	0,26	0,07	0,46	0,25	0,14	0,45
	SD ±	2,17	2,88	2,07	1,56	2,20	2,18
	p	0,61	1,00	0,43	0,63	0,87	0,67
HE	n	42	13	14	15	25	17
	mittlere Änd.	0,04	-1,02	0,86	0,18	0,14	-0,12
	SD ±	2,59	3,01	3,08	1,16	2,59	2,66
	p	0,93	0,25	0,31	0,56	1,00	0,55
<b>NO<sub>alv</sub> [ppb]</b>		ALLE	GES	AST	BET	HYP	NHYP
LE	n	41	13	14	14	25	16
	mittlere Änd.	0,03	0,02	0,11	-0,03	0,03	0,04
	SD ±	0,48	0,34	0,54	0,54	0,50	0,45
	p	0,64	0,82	0,45	0,83	0,76	0,72
HE	n	42	13	14	15	25	17
	mittlere Änd.	0,09	0,02	0,08	0,16	0,11	0,05
	SD ±	0,53	0,68	0,53	0,39	0,55	0,53
	p	0,29	0,94	0,59	0,14	0,32	0,69
<b>ECP [µg/L]</b>		ALLE	GES	AST	BET	HYP	NHYP
LE	n	49	23	13	13	27	22
	mittlere Änd.	0,93	1,01	0,87	0,83	1,43	0,31
	SD ±	3,5	4,6	2,4	2,0	3,2	3,9
	p	<0,05	<0,05	0,22	0,17	<0,05	0,09
HE	n	51	23	14	14	28	23
	mittlere Änd.	1,3	1,7	1,9	0,2	1,4	1,3
	SD ±	2,4	2,2	3,0	1,9	3,0	1,5
	p	<0,001	<0,001	<0,05	0,671	<0,05	<0,001

Gesamt-IgE [kU/L]		ALLE	GES	AST	BET	HYP	NHYP
LE	n	49	23	14	12	28	21
	mittlere Änd.	0,7	0,1	1,9	0,7	1,2	0,2
	SD ±	2,1	1,1	3,2	1,5	2,5	1,1
	p	<0,05	0,45	<0,05	0,05	<0,05	0,19
HE	n	50	23	14	13	28	22
	mittlere Änd.	2,0	0,0	3,8	3,6	3,6	0,0
	SD ±	8,0	1,2	7,2	13,7	10,4	1,4
	p	<0,05	0,97	<0,05	0,46	<0,05	0,74
8-OHdG [ng/mL]		ALLE	GES	AST	BET	HYP	NHYP
LE	n	48	21	14	13	27	21
	mittlere Änd.	-0,014	0,000	-0,044	-0,004	-0,010	-0,018
	SD ±	0,054	0,059	0,052	0,033	0,061	0,043
	p	0,08	0,98	<0,001	0,67	0,39	0,07
HE	n	50	22	14	14	27	23
	mittlere Änd.	-0,003	0,004	-0,009	-0,006	0,003	-0,008
	SD ±	0,048	0,056	0,032	0,048	0,033	0,061
	p	0,71	0,73	0,31	0,62	0,69	0,51

Fortsetzung von Tabelle 15a



SIL-1 $\beta$ [ $\mu\text{g/L}$ ]		ALLE	GES	AST	BET	HYP	NHYP
LE	n	4	Fallzahl !				
	mittlere Änd.	8,93					
	SD $\pm$	1,27					
	p	<0,001					
HE	n	6	Fallzahl !				
	mittlere Änd.	-0,76					
	SD $\pm$	9,27					
	p	0,85					
SIL-5 [ $\mu\text{g/L}$ ]		ALLE	GES	AST	BET	HYP	NHYP
LE	n	18	6	6	6	11	7
	mittlere Änd.	-1,4	-0,8	-4,1	0,8	-3,3	1,7
	SD $\pm$	14	22	6	14	16	11
	p	0,69	0,93	0,18	0,9	0,52	0,71
HE	n	19	5	8	6	12	7
	mittlere Änd.	-0,5	6,9	-6,2	0,9	-6,8	10,2
	SD $\pm$	13	9	10	18	11	9
	p	0,86	0,16	0,12	0,91	0,05	<0,05
SIL-6 [ $\mu\text{g/L}$ ]		ALLE	GES	AST	BET	HYP	NHYP
LE	n	41	17	11	13	22	19
	mittlere Änd.	-1,9	-3,0	-2,9	0,6	-4,3	1,0
	SD $\pm$	16	21	4	17	19	13
	p	0,14	0,57	<0,05	0,91	<0,05	0,75
HE	n	40	15	12	13	23	17
	mittlere Änd.	-2,9	-0,3	-6,2	-2,8	-5,4	0,6
	SD $\pm$	20	17	11	28	21	18
	p	0,26	0,95	0,09	0,73	0,23	0,90

Fortsetzung von Tabelle 15a

<b>SIL-8 [µg/L]</b>		ALLE	GES	AST	BET	HYP	NHYP
LE	n	51	23	14	14	28	23
	mittlere Änd.	-8	-13	-12	5	-14	0
	SD ±	61	63	36	78	69	49
	p	0,16	0,32	0,67	0,86	0,09	0,97
HE	n	52	23	14	15	28	24
	mittlere Änd.	-5	7	-16	-13	-13	5
	SD ±	62	53	45	85	70	51
	p	0,36	0,94	0,36	0,58	0,30	0,79
<b>SGM-CSF [µg/L]</b>		ALLE	GES	AST	BET	HYP	NHYP
LE	n	50	22	14	14	28	22
	mittlere Änd.	-5,7	-9,3	-5,2	-0,4	-7,2	-3,7
	SD ±	44	48	26	55	51	35
	p	0,32	0,37	0,76	0,98	0,47	0,62
HE	n	52	23	14	15	28	24
	mittlere Änd.	-0,4	4,9	-1,7	-7,3	-2,6	2,2
	SD ±	48	38	51	59	54	39
	p	0,87	0,66	0,72	0,64	0,94	0,79
<b>SIFNγ [µg/L]</b>		ALLE	GES	AST	BET	HYP	NHYP
LE	n	49	21	14	14	27	22
	mittlere Änd.	-10	-17	-22	13	-16	-3
	SD ±	132	150	65	157	152	106
	p	0,36	0,31	1,00	0,76	0,33	0,90
HE	n	51	23	14	14	28	23
	mittlere Änd.	-10	9	-24	-25	-18	1
	SD ±	113	91	108	149	131	89
	p	0,36	0,82	0,63	0,53	0,59	0,44
<b>STNFα [µg/L]</b>		ALLE	GES	AST	BET	HYP	NHYP
LE	n	36	15	10	11	20	16
	mittlere Änd.	-5	-10	-14	9	-9	-1
	SD ±	59	78	23	55	68	49
	p	0,61	0,64	0,08	0,60	0,45	0,96
HE	n	37	14	12	11	22	15
	mittlere Änd.	-2	9	-8	-10	-5	1
	SD ±	42	47	26	51	49	33
	p	0,60	0,81	0,28	0,55	0,67	0,90

Fortsetzung von Tabelle 15a

NIL-1 $\beta$ [ $\mu\text{g/L}$ ]		ALLE	GES	AST	BET	HYP	NHYP
LE	n	44	18	13	13	25	19
	mittlere Änd.	2	5	-12	13	-9	18
	SD $\pm$	39	30	45	42	36	38
	p	0,07	0,28	0,50	0,13	0,91	<0,05
HE	n	42	18	11	13	25	17
	mittlere Änd.	-3	4	-15	-4	-11	8
	SD $\pm$	56	31	84	57	64	40
	p	0,81	0,56	0,90	0,82	0,69	0,42
NIL-5 [ $\mu\text{g/L}$ ]		ALLE	GES	AST	BET	HYP	NHYP
LE	n	32	11	12	9	21	11
	mittlere Änd.	11	-4	10	31	4	25
	SD $\pm$	55	48	25	85	28	86
	p	0,14	0,41	0,17	0,31	0,55	0,35
HE	n	29	10	10	9	17	12
	mittlere Änd.	16	15	24	10	15	18
	SD $\pm$	61	47	41	92	49	77
	p	0,18	0,38	0,09	1,00	0,22	0,57
NIL-6 [ $\mu\text{g/L}$ ]		ALLE	GES	AST	BET	HYP	NHYP
LE	n	48	21	14	13	26	22
	mittlere Änd.	106	82	40	214	60	160
	SD $\pm$	170	179	36	200	112	210
	p	<0,001	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,001
HE	n	49	20	14	15	27	22
	mittlere Änd.	132	163	90	129	51	231
	SD $\pm$	420	602	181	281	144	599
	p	<0,05	0,05	<0,05	0,17	<0,05	<0,05
NIL-8 [ $\mu\text{g/L}$ ]		ALLE	GES	AST	BET	HYP	NHYP
LE	n	48	21	14	13	26	22
	mittlere Änd.	-290	-338	-302	-202	-327	-248
	SD $\pm$	944	816	1222	869	939	972
	p	0,16	0,07	0,37	0,74	0,17	0,25
HE	n	50	21	14	15	27	23
	mittlere Änd.	-70	84	277	-611	-229	116
	SD $\pm$	1732	1072	2520	1579	2076	1234
	p	0,99	0,72	0,50	0,16	0,30	0,66

Fortsetzung von Tabelle 15a

NGM-CSF [ $\mu\text{g/L}$ ]		ALLE	GES	AST	BET	HYP	NHYP
LE	n	42	18	14	10	23	19
	mittlere Änd.	20	-18	22	86	0,81	43
	SD $\pm$	194	184	88	299	107	266
	p	0,18	0,52	0,24	0,77	0,96	<0,05
HE	n	45	18	14	13	24	21
	mittlere Änd.	6	10	-4	10	-4	17
	SD $\pm$	174	136	46	286	132	214
	p	0,13	0,83	0,30	0,19	0,12	0,73
NIFN $\gamma$ [ $\mu\text{g/L}$ ]		ALLE	GES	AST	BET	HYP	NHYP
LE	n	41	17	13	11	23	18
	mittlere Änd.	149	91	53	354	26	307
	SD $\pm$	1017	1174	351	1310	778	1266
	p	0,34	0,38	0,69	0,97	0,68	0,10
HE	n	45	17	14	14	25	20
	mittlere Änd.	115	304	-41	42	156	64
	SD $\pm$	1119	1507	250	1141	1256	949
	p	0,63	0,58	0,55	0,33	0,85	0,65
NTNF $\alpha$ [ $\mu\text{g/L}$ ]		ALLE	GES	AST	BET	HYP	NHYP
LE	n	46	21	13	12	24	22
	mittlere Änd.	5	-73	32	113	-22	34
	SD $\pm$	467	589	150	459	345	578
	p	0,24	0,24	0,46	1,00	0,99	0,11
HE	n	45	18	13	14	24	21
	mittlere Änd.	46	152	-8	-41	100	-16
	SD $\pm$	530	787	73	333	680	282
	p	0,74	0,40	0,71	0,50	0,28	0,56

Fortsetzung von Tabelle 15a

FEV <sub>1</sub> [L]		ALLE	GES	AST	BET	HYP	NHYP
LE	n	51	23	14	14	28	23
	mittlere Änd.	0,02	-0,01	0,04	0,03	0,01	0,02
	SD ±	0,10	0,10	0,12	0,07	0,11	0,10
	p	0,29	0,65	0,23	0,14	0,59	0,33
HE	n	52	23	14	15	28	24
	mittlere Änd.	0,00	0,02	0,01	-0,03	0,01	-0,01
	SD ±	0,09	0,10	0,08	0,09	0,08	0,11
	p	0,73	0,29	0,72	0,25	0,36	0,76
FVC [L]		ALLE	GES	AST	BET	HYP	NHYP
LE	n	51	23	14	14	28	23
	mittlere Änd.	-0,01	-0,03	0,01	0,00	-0,01	0,00
	SD ±	0,10	0,09	0,10	0,11	0,09	0,10
	p	0,17	0,19	0,75	0,92	0,40	0,84
HE	n	52	23	14	15	28	24
	mittlere Änd.	-0,03	-0,01	-0,05	-0,04	-0,03	-0,03
	SD ±	0,11	0,13	0,12	0,08	0,11	0,12
	p	0,06	0,79	0,12	0,05	0,14	0,26
sR <sub>tot</sub> [kPa*s]		ALLE	GES	AST	BET	HYP	NHYP
LE	n	51	23	14	14	28	23
	mittlere Änd.	0,00	0,02	-0,04	0,00	-0,02	0,02
	SD ±	0,13	0,08	0,16	0,15	0,13	0,12
	p	0,93	0,23	0,32	0,27	0,41	0,70
HE	n	52	23	14	15	28	24
	mittlere Änd.	0,01	0,06	-0,06	-0,01	-0,01	0,03
	SD ±	0,11	0,10	0,12	0,07	0,12	0,08
	p	0,50	<0,05	0,11	0,73	0,80	0,09
ITGV [L]		ALLE	GES	AST	BET	HYP	NHYP
LE	n	51	23	14	14	28	23
	mittlere Änd.	-0,01	0,04	-0,09	-0,01	-0,03	0,02
	SD ±	0,19	0,19	0,22	0,12	0,23	0,11
	p	0,88	0,30	0,16	0,71	0,40	0,43
HE	n	52	23	14	15	28	24
	mittlere Änd.	-0,04	-0,04	-0,07	-0,01	-0,03	-0,05
	SD ±	0,15	0,16	0,17	0,10	0,15	0,14
	p	0,06	0,29	0,13	0,66	0,27	0,13
VA [L]		ALLE	GES	AST	BET	HYP	NHYP
LE	n	51	23	14	14	28	23
	mittlere Änd.	-0,06	-0,05	-0,04	-0,09	-0,05	-0,07
	SD ±	0,15	0,16	0,15	0,11	0,14	0,15
	p	<0,05	0,16	0,36	<0,05	0,07	<0,05
HE	n	52	23	14	15	28	24
	mittlere Änd.	-0,04	-0,01	-0,03	-0,09	-0,03	-0,04
	SD ±	0,12	0,10	0,16	0,10	0,13	0,12
	p	<0,05	0,70	0,51	<0,05	0,21	0,08

DLNO [mmol/min/kPa]		ALLE	GES	AST	BET	HYP	NHYP
LE	n	51	23	14	14	28	23
	mittlere Änd.	-1,00	-1,25	-0,41	-1,19	-0,69	-1,39
	SD ±	2,17	2,74	1,71	1,40	1,81	2,53
	p	<0,05	<0,05	0,39	<0,05	0,06	<0,05
HE	n	52	23	14	15	28	24
	mittlere Änd.	-1,27	-1,37	-1,02	-1,34	-1,12	-1,44
	SD ±	1,97	1,99	2,11	1,93	2,01	1,96
	p	<0,001	<0,05	0,09	<0,05	<0,05	<0,05
DLNO/VA [mmol/min/kPa/L]		ALLE	GES	AST	BET	HYP	NHYP
LE	n	51	23	14	14	28	23
	mittlere Änd.	-0,09	-0,14	0,01	-0,10	-0,04	-0,15
	SD ±	0,27	0,30	0,29	0,19	0,26	0,28
	p	<0,05	<0,05	0,87	0,08	0,47	<0,05
HE	n	52	23	14	15	28	24
	mittlere Änd.	-0,17	-0,21	-0,14	-0,14	-0,14	-0,20
	SD ±	0,28	0,31	0,26	0,27	0,26	0,31
	p	<0,001	<0,05	0,07	0,07	<0,05	<0,05
DLCO [mmol/min/kPa]		ALLE	GES	AST	BET	HYP	NHYP
LE	n	51	23	14	14	28	23
	mittlere Änd.	-0,16	-0,17	-0,18	-0,10	-0,14	-0,18
	SD ±	0,42	0,45	0,32	0,49	0,41	0,45
	p	<0,05	0,08	0,05	0,45	0,09	0,07
HE	n	52	23	14	15	28	24
	mittlere Änd.	-0,17	-0,24	-0,17	-0,06	-0,12	-0,23
	SD ±	0,39	0,37	0,51	0,26	0,41	0,36
	p	<0,05	<0,05	0,23	0,41	0,15	<0,05
DLCO/VA [mmol/min/kPa/L]		ALLE	GES	AST	BET	HYP	NHYP
LE	n	51	23	14	14	28	23
	mittlere Änd.	-0,01	-0,02	-0,02	0,01	-0,01	-0,01
	SD ±	0,07	0,05	0,05	0,10	0,08	0,05
	p	0,21	0,15	0,08	0,82	0,43	0,29
HE	n	52	23	14	15	28	24
	mittlere Änd.	-0,02	-0,04	-0,02	0,01	-0,01	-0,03
	SD ±	0,07	0,07	0,07	0,05	0,07	0,07
	p	0,07	<0,05	0,35	0,35	0,50	0,06

Fortsetzung von Tabelle 15a

Tabelle 15b: Gesamtgruppe sowie Einzelgruppen im Vorher-Nachher-Vergleich (Daten wie Tabelle 15 a, jedoch Mediane und Quartile)

<b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> µmol/µl</b>		ALLE	GES	AST	BET	HYP	NHYP
LE	n	22	4*	8	10	13	9
	Median d. Änd.	0,103	0,223	0,094	0,098	0,102	0,109
	unt. Quartil	0,037	-0,004	0,032	0,056	0,034	0,038
	ob. Quartil	0,311	0,547	0,191	0,407	0,256	0,417
	p	<0,001	0,24	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05
HE	n	18	3*	6	9	12	6
	Median d. Änd.	0,101	0,121	0,164	0,089	0,121	0,101
	unt. Quartil	0,064	0,079	0,028	0,059	0,046	0,072
	ob. Quartil	0,180	0,452	0,180	0,143	0,189	0,121
	p	<0,001	0,25	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05
<b>NO<sub>bro</sub> [ppb]</b>		ALLE	GES	AST	BET	HYP	NHYP
LE	n	41	13	14	14	25	16
	Median d. Änd.	0,13	-0,17	0,49	0,09	0,04	0,16
	unt. Quartil	-0,67	-0,94	-0,83	-0,41	-0,84	-0,46
	ob. Quartil	1,04	1,01	1,11	0,26	1,05	1,02
	p	0,61	1,00	0,43	0,63	0,87	0,67
HE	n	42	13	14	15	25	17
	Median d. Änd.	0,10	-0,46	0,30	0,07	-0,02	0,18
	unt. Quartil	-0,89	-2,71	-0,80	-0,50	-1,06	-0,73
	ob. Quartil	1,10	0,86	2,57	0,78	1,84	1,02
	p	0,93	0,25	0,31	0,56	1,00	0,55
<b>ECP [µg/L]</b>		ALLE	GES	AST	BET	HYP	NHYP
LE	n	49	23	13	13	27	22
	Median d. Änd.	0,93	0,87	0,93	1,29	1,10	0,86
	unt. Quartil	-0,13	-0,20	0,23	-0,52	0,07	-0,23
	ob. Quartil	2,54	3,00	1,82	2,54	2,55	2,46
	p	<0,05	<0,05	0,22	0,17	<0,05	0,09
HE	n	51	23	14	14	28	23
	Median d. Änd.	0,90	1,16	1,46	0,51	0,74	1,09
	unt. Quartil	0,02	0,27	0,25	-0,57	-0,52	0,48
	ob. Quartil	2,28	2,28	2,98	0,90	2,80	2,03
	p	<0,001	<0,001	<0,05	0,671	<0,05	<0,001

Gesamt-IgE [kU/L]		ALLE	GES	AST	BET	HYP	NHYP
LE	n	49	23	14	12	28	21
	Median d. Änd.	0,30	0,20	1,95	0,36	0,81	0,23
	unt. Quartil	-0,22	-0,30	-0,20	0,15	-0,05	-0,29
	ob. Quartil	1,13	0,86	4,00	0,89	2,00	0,75
	p	<0,05	0,45	<0,05	0,05	<0,05	0,19
HE	n	50	23	14	13	28	22
	Median d. Änd.	0,20	0,00	2,20	0,24	0,65	0,03
	unt. Quartil	-0,30	-0,39	0,06	-0,15	-0,10	-0,30
	ob. Quartil	1,10	0,64	4,00	0,90	2,20	0,47
	p	<0,05	0,97	<0,05	0,46	<0,05	0,74
8-OHdG [ng/mL]		ALLE	GES	AST	BET	HYP	NHYP
LE	n	48	21	14	13	27	21
	Median d. Änd.	-0,015	0,001	-0,023	-0,012	-0,015	-0,014
	unt. Quartil	-0,040	-0,030	-0,059	-0,038	-0,037	-0,040
	ob. Quartil	0,020	0,030	-0,015	0,023	0,025	0,014
	p	0,08	0,98	<0,001	0,67	0,39	0,07
HE	n	50	22	14	14	27	23
	Median d. Änd.	-0,003	0,014	-0,015	-0,003	-0,001	-0,013
	unt. Quartil	-0,029	-0,021	-0,035	-0,046	-0,017	-0,034
	ob. Quartil	0,027	0,031	0,022	0,028	0,026	0,030
	p	0,71	0,73	0,31	0,62	0,69	0,51

Fortsetzung von Tabelle 15b



SIL-1β [µg/L]		ALLE					
LE	n	4	Fallzahl				
	Median d. Änd.	9,26					
	unt. Quartil	8,11					
	ob. Quartil	9,75					
	p	<0,001					
HE	n	6	Fallzahl				
	Median d. Änd.	-2,74					
	unt. Quartil	-8,63					
	ob. Quartil	7,58					
	p	0,85					
SIL-5 [µg/L]		ALLE	GES	AST	BET	HYP	NHYP
LE	n	18	6	6	6	11	7
	Median d. Änd.	-2,7	-1,3	-2,7	-0,2	-2,9	4,0
	unt. Quartil	-11,6	-12,4	-10,0	-9,2	-12,4	-9,8
	ob. Quartil	9,0	16,5	-0,2	10,7	2,9	10,3
	p	0,69	0,93	0,18	0,9	0,52	0,71
HE	n	19	5	8	6	12	7
	Median d. Änd.	-3,6	9,1	-7,8	-1,0	-8,6	11,3
	unt. Quartil	-11,7	2,8	-10,8	-14,9	-14,1	7,3
	ob. Quartil	11,0	11,8	-2,0	19,1	-2,0	17,5
	p	0,86	0,16	0,12	0,91	0,05	<0,05
SIL-6 [µg/L]		ALLE	GES	AST	BET	HYP	NHYP
LE	n	41	17	11	13	22	19
	Median d. Änd.	-3,2	-3,7	-2,9	-5,6	-5,1	-0,8
	unt. Quartil	-9,1	-11,0	-5,3	-9,6	-9,3	-7,3
	ob. Quartil	4,6	7,9	-0,4	8,0	-0,3	7,6
	p	0,14	0,57	<0,05	0,91	<0,05	0,75
HE	n	40	15	12	13	23	17
	Median d. Änd.	-3,3	1,5	-5,2	-3,2	-4,5	-3,2
	unt. Quartil	-11,0	-8,7	-11,4	-15,5	-13,2	-7,8
	ob. Quartil	6,7	6,7	-0,5	18,2	6,6	8,0
	p	0,26	0,95	0,09	0,73	0,23	0,90

Fortsetzung von Tabelle 15b

<b>SIL-8 [µg/L]</b>		ALLE	GES	AST	BET	HYP	NHYP
LE	n	51	23	14	14	28	23
	Median d. Änd.	-4,6	-11,9	-2,6	-1,7	-7,3	-4,1
	unt. Quartil	-31,5	-29,9	-10,0	-36,5	-45,5	-29,9
	ob. Quartil	13,4	7,5	14,0	15,3	4,3	28,4
	p	0,16	0,32	0,67	0,86	0,09	0,97
HE	n	52	23	14	15	28	24
	Median d. Änd.	-2,3	-1,4	-7,9	-2,5	-5,0	-1,9
	unt. Quartil	-27,5	-14,6	-19,0	-49,4	-33,8	-20,7
	ob. Quartil	14,4	9,0	15,4	22,7	12,4	17,2
	p	0,36	0,94	0,36	0,58	0,30	0,79
<b>SGM-CSF [µg/L]</b>		ALLE	GES	AST	BET	HYP	NHYP
LE	n	50	22	14	14	28	22
	Median d. Änd.	-1,8	-2,9	-0,4	-3,7	-2,9	0,5
	unt. Quartil	-26,7	-26,7	-7,4	-32,8	-26,9	-26,7
	ob. Quartil	11,3	11,3	4,7	20,0	7,2	13,9
	p	0,32	0,37	0,76	0,98	0,47	0,62
HE	n	52	23	14	15	28	24
	Median d. Änd.	-1,0	0,2	2,7	-11,0	3,4	-1,7
	unt. Quartil	-20,8	-7,3	-8,6	-48,4	-17,5	-20,8
	ob. Quartil	15,4	15,5	15,1	20,5	15,4	15,5
	p	0,87	0,66	0,72	0,64	0,94	0,79
<b>SIFNγ [µg/L]</b>		ALLE	GES	AST	BET	HYP	NHYP
LE	n	49	21	14	14	27	22
	Median d. Änd.	-5,0	-13,9	3,1	-4,7	-5,0	-2,0
	unt. Quartil	-58,2	-54,4	-12,9	-92,4	-56,6	-71,1
	ob. Quartil	24,7	30,8	17,5	74,5	16,3	38,3
	p	0,36	0,31	1,00	0,76	0,33	0,90
HE	n	51	23	14	14	28	23
	Median d. Änd.	-8,9	-8,1	-6,4	-31,7	-6,4	-20,1
	unt. Quartil	-32,3	-26,4	-13,8	-121,2	-38,0	-30,6
	ob. Quartil	22,6	24,0	8,9	33,5	19,8	24,0
	p	0,36	0,82	0,63	0,53	0,59	0,44
<b>STNFα [µg/L]</b>		ALLE	GES	AST	BET	HYP	NHYP
LE	n	36	15	10	11	20	16
	Median d. Änd.	-2,4	-10,5	-5,9	13,2	-2,4	-2,2
	unt. Quartil	-32,0	-48,2	-30,8	-31,0	-29,9	-46,5
	ob. Quartil	23,9	29,0	0,5	40,1	10,4	36,7
	p	0,61	0,64	0,08	0,60	0,45	0,96
HE	n	37	14	12	11	22	15
	Median d. Änd.	-0,6	3,9	-0,2	-10,4	-0,2	-2,5
	unt. Quartil	-30,1	-29,9	-21,4	-46,4	-30,7	-25,9
	ob. Quartil	12,4	30,8	5,5	33,1	7,2	19,5
	p	0,60	0,81	0,28	0,55	0,67	0,90

NIL-1β [µg/L]		ALLE	GES	AST	BET	HYP	NHYP
LE	n	44	18	13	13	25	19
	Median d. Änd.	5,4	6,2	0,5	5,8	0,5	8,1
	unt. Quartil	-4,9	-5,2	-6,2	0,9	-7,8	1,3
	ob. Quartil	11,5	10,4	11,9	19,5	10,6	38,9
	p	0,07	0,28	0,50	0,13	0,91	<0,05
HE	n	42	18	11	13	25	17
	Median d. Änd.	0,2	-0,3	8,0	-0,4	-2,1	7,7
	unt. Quartil	-12,3	-9,8	-11,8	-37,4	-11,0	-17,6
	ob. Quartil	13,6	18,7	12,7	20,7	13,5	29,0
	p	0,81	0,56	0,90	0,82	0,69	0,42
NIL-5 [µg/L]		ALLE	GES	AST	BET	HYP	NHYP
LE	n	32	11	12	9	21	11
	Median d. Änd.	7,7	7,6	9,9	1,9	1,9	15,2
	unt. Quartil	-10,9	-7,0	-7,4	-15,0	-8,1	-12,3
	ob. Quartil	20,2	18,4	17,6	73,2	14,5	44,8
	p	0,14	0,41	0,17	0,31	0,55	0,35
HE	n	29	10	10	9	17	12
	Median d. Änd.	5,9	4,2	21,2	4,4	16,7	5,2
	unt. Quartil	-10,4	-3,9	-8,8	-47,8	-9,7	-13,0
	ob. Quartil	24,4	16,7	36,4	18,8	32,8	15,6
	p	0,18	0,38	0,09	1,00	0,22	0,57
NIL-6 [µg/L]		ALLE	GES	AST	BET	HYP	NHYP
LE	n	48	21	14	13	26	22
	Median d. Änd.	50,4	32,7	32,5	128,7	32,4	69,2
	unt. Quartil	17,5	10,5	8,0	64,6	8,0	18,2
	ob. Quartil	125,6	98,9	64,4	346,3	81,3	305,7
	p	<0,001	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,001
HE	n	49	20	14	15	27	22
	Median d. Änd.	15,2	9,3	21,8	23,6	23,6	13,6
	unt. Quartil	-1,9	-5,3	5,6	-25,0	-18,0	2,3
	ob. Quartil	111,2	92,8	132,4	123,0	95,2	131,1
	p	<0,05	0,05	<0,05	0,17	<0,05	<0,05
NIL-8 [µg/L]		ALLE	GES	AST	BET	HYP	NHYP
LE	n	48	21	14	13	26	22
	Median d. Änd.	-91	-297	9	167	-164	84
	unt. Quartil	-661	-726	-567	-765	-567	-936
	ob. Quartil	340	180	528	360	220	423
	p	0,16	0,07	0,37	0,74	0,17	0,25
HE	n	50	21	14	15	27	23
	Median d. Änd.	35	55	194	-232	-37	103
	unt. Quartil	-479	-326	-200	-1336	-535	-226
	ob. Quartil	458	631	424	430	244	774
	p	0,99	0,72	0,50	0,16	0,30	0,66

NGM-CSF [ $\mu\text{g/L}$ ]		ALLE	GES	AST	BET	HYP	NHYP
LE	n	42	18	14	10	23	19
	Median d. Änd.	8,9	1,2	11,2	1,9	0,4	11,5
	unt. Quartil	-11,1	-11,1	0,4	-23,3	-15,0	-2,0
	ob. Quartil	33,4	33,4	21,8	33,8	17,7	33,7
	p	0,18	0,52	0,24	0,77	0,96	<0,05
HE	n	45	18	14	13	24	21
	Median d. Änd.	-5,3	1,1	-12,0	-8,5	-10,2	-0,7
	unt. Quartil	-20,3	-7,3	-21,0	-65,8	-31,9	-16,6
	ob. Quartil	10,8	13,3	1,8	-0,2	5,1	11,8
	p	0,13	0,83	0,30	0,19	0,12	0,73
NIFNy [ $\mu\text{g/L}$ ]		ALLE	GES	AST	BET	HYP	NHYP
LE	n	41	17	13	11	23	18
	Median d. Änd.	39	200	0	18	-12	150
	unt. Quartil	-122	-143	-23	-253	-236	-34
	ob. Quartil	212	449	108	149	103	356
	p	0,34	0,38	0,69	0,97	0,68	0,10
HE	n	45	17	14	14	25	20
	Median d. Änd.	-7	61	-4	-128	24	-63
	unt. Quartil	-180	-147	-134	-233	-173	-194
	ob. Quartil	165	213	52	48	121	196
	p	0,63	0,58	0,55	0,33	0,85	0,65
NTNF $\alpha$ [ $\mu\text{g/L}$ ]		ALLE	GES	AST	BET	HYP	NHYP
LE	n	46	21	13	12	24	22
	Median d. Änd.	13,4	26,2	13,3	-4,7	2,9	20,9
	unt. Quartil	-33,2	-24,6	-12,4	-60,5	-57,7	-9,4
	ob. Quartil	66,1	72,0	34,5	53,6	54,3	88,3
	p	0,24	0,24	0,46	1,00	0,99	0,11
HE	n	45	18	13	14	24	21
	Median d. Änd.	-1,4	23,4	-28,2	-10,8	-18,4	11,0
	unt. Quartil	-44,9	-22,0	-46,9	-99,1	-48,6	-24,8
	ob. Quartil	38,5	51,2	10,6	19,2	23,4	50,8
	p	0,74	0,40	0,71	0,50	0,28	0,56
sR <sub>tot</sub> [kPa*s]		ALLE	GES	AST	BET	HYP	NHYP
LE	n	51	23	14	14	28	23
	Median d. Änd.	0,00	0,03	-0,01	-0,02	-0,01	0,00
	unt. Quartil	-0,07	-0,04	-0,18	-0,08	-0,10	-0,04
	ob. Quartil	0,06	0,08	0,06	0,01	0,07	0,06
	p	0,93	0,23	0,32	0,27	0,41	0,70
HE	n	52	23	14	15	28	24
	Median d. Änd.	0,02	0,06	-0,02	0,01	0,02	0,03
	unt. Quartil	-0,07	0,00	-0,15	-0,06	-0,10	-0,02
	ob. Quartil	0,08	0,12	0,03	0,03	0,08	0,08
	p	0,50	<0,05	0,11	0,73	0,80	0,09

Tabelle 16: Prozentuale Änderungen ausgewählter Messgrößen (für ECP, Gesamt-IgE, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, SIL-6 und NIL-6 sind die Mediane angegeben)

	LE		HE	
	mittlere Änd.	P	mittlere Änd.	P
DLNO (mmol/min/kPa)	-1,9%	<b>&lt;0,05</b>	-2,6%	<b>&lt;0,001</b>
DLNO/VA(mmol/min/kPa/L)	-1,0%	<b>&lt;0,05</b>	-2,0%	<b>&lt;0,001</b>
DLCO (mmol/min/kPa)	-1,5%	<b>&lt;0,05</b>	-1,6%	<b>&lt;0,05</b>
DLCO/VA(mmol/min/kPa/L)	-0,6%	0,21	-0,9%	0,07
VA (L)	-0,9%	<b>&lt;0,05</b>	-0,6%	<b>&lt;0,05</b>
FEV <sub>1</sub> (L)	0,6%	0,29	0,0%	0,73
ECP	12,3%	<b>&lt;0,05</b>	16,4%	<b>&lt;0,001</b>
Gesamt-IgE	1,4%	<b>&lt;0,05</b>	1,2%	<b>&lt;0,05</b>
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (µmol)	41,8%	<b>&lt;0,001</b>	36,5%	<b>&lt;0,001</b>
SIL-6	-25,0%	0,14	-30,9%	0,26
NIL-6	96,6%	<b>&lt;0,001</b>	32,1%	<b>&lt;0,05</b>

Tabelle 17: Gruppenvergleiche der Delta-Werte (vorher-nachher)

LE			HE		
	GES-AST-BET	HYP-NHYP		GES-AST-BET	HYP-NHYP
<b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>			<b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>		
P	0,536	0,738	p	0,411	0,963
<b>NO<sub>bro</sub></b>			<b>NO<sub>bro</sub></b>		
P	0,875	0,779	p	0,164	0,760
<b>NO<sub>alv</sub></b>			<b>NO<sub>alv</sub></b>		
P	0,729	0,947	p	0,786	0,731
<b>ECP</b>			<b>ECP</b>		
P	0,99	0,494	p	0,146	0,935
<b>Gesamt-IgE</b>			<b>Gesamt-IgE</b>		
P	0,072	0,143	p	<0,05	0,116
<b>SIL-5</b>			<b>SIL-5</b>		
P	0,88	0,49	p	0,345	<0,05
<b>SIL-6</b>			<b>SIL-6</b>		
P	0,919	0,278	p	0,571	0,356
<b>SIL-8</b>			<b>SIL-8</b>		
P	0,823	0,421	p	0,614	0,468
<b>SGM-CSF</b>			<b>SGM-CSF</b>		
P	0,904	0,632	p	0,521	0,891
<b>SIFN<math>\gamma</math></b>			<b>SIFN<math>\gamma</math></b>		
P	0,896	0,680	p	0,508	0,828
<b>STNF<math>\alpha</math></b>			<b>STNF<math>\alpha</math></b>		
P	0,635	0,691	p	0,547	0,745
<b>NIL-1<math>\beta</math></b>			<b>NIL-1<math>\beta</math></b>		
P	0,681	0,061	p	0,963	0,398
<b>NIL-5</b>			<b>NIL-5</b>		
P	0,982	0,321	p	0,440	0,611
<b>NIL-6</b>			<b>NIL-6</b>		
P	<0,05	0,128	p	0,784	0,427
<b>NIL-8</b>			<b>NIL-8</b>		
P	0,664	0,671	p	0,315	0,090
<b>NGM-CSF</b>			<b>NGM-CSF</b>		
P	0,857	0,180	p	0,225	0,270
<b>NIFN<math>\gamma</math></b>			<b>NIFN<math>\gamma</math></b>		
P	0,631	0,076	p	0,408	0,723
<b>NTNF<math>\alpha</math></b>			<b>NTNF<math>\alpha</math></b>		
P	0,500	0,206	p	0,311	0,301
<b>8-OHdG</b>			<b>8-OHdG</b>		
p	<0,05	0,618	p	0,681	0,546

<b>FVC</b> P	0,559	0,940	<b>FVC</b> p	0,437	0,857
<b>FEV1</b> P	0,275	0,828	<b>FEV1</b> p	0,273	0,426
<b>sRtot</b> P	0,318	0,241	<b>sRtot</b> p	<0,05	0,312
<b>ITGV</b> P	0,125	0,252	<b>ITGV</b> p	0,544	0,760
<b>VA</b> P	0,593	0,717	<b>VA</b> p	0,132	0,739
<b>DLNO</b> P	0,353	0,256	<b>DLNO</b> p	0,865	0,555
<b>DLNO/VA</b> P	0,260	0,152	<b>DLNO/VA</b> p	0,655	0,420
<b>DLCO</b> P	0,853	0,722	<b>DLCO</b> p	0,39	0,311
<b>DLCO/VA</b> P	0,487	0,999	<b>DLCO/VA</b> p	0,069	0,300

Fortsetzung von Tabelle 17





## II Fragebögen

### CAUS

Pb: \_\_\_\_\_

Der folgende Fragebogen soll Ihre Reaktionen auf Umweltreize – insbesondere chemische Reize – erfassen.

Bitte kreuzen Sie an, wie sehr die aufgeführten Reaktionsweisen auf Sie zutreffen. Dabei bedeuten 0 „gar nicht zutreffend“ und 5 „sehr zutreffend“. Die Kategorien 2-4 stellen Abstufungen dazwischen dar, die von „wenig zutreffend“ (1) bis „annähernd zutreffen“ (4) reichen.

Bitte lassen Sie keine Frage aus!

	sehr zutreffend			gar nicht zutreffend	
1. Wenn ich die Farbe in frisch gestrichenen Räumen rieche, bekomme ich leicht Atemnot.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
2. Sprays und trocknende Lacke verursachen bei mir das Gefühl von Atemnot.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
3. Bei geringen Mengen von Rauchabgasen muss ich husteln.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
4. Sobald ich Rauchabgase rieche, bekomme ich Atembeklemmungen.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
5. Bei starkem Lackgeruch bekomme ich Atembeklemmungen.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
6. Bei starkem Lack- oder Rauchgeruch kann mir schwindelig werden.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
7. Auf Benzinabgase an der Tankstelle reagiere ich empfindlich.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
8. Bei Geruch von starken Reinigungsmitteln bekomme ich Atembeschwerden.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

## PANAS

Dieser Fragebogen enthält eine Reihe von Wörtern, die unterschiedliche Gefühle und Empfindungen beschreiben. Lesen Sie jedes Wort und tragen Sie dann in die Skala neben jedem Wort die Intensität ein. Sie haben die Möglichkeit, zwischen fünf Abstufungen zu wählen. Geben Sie bitte an, wie Sie sich **im Verlauf der letzten 12 Monate** gefühlt haben.

	ganz wenig oder gar nicht	ein bisschen	einigermassen	erheblich	äusserst
aktiv	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
bekümmert	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
interessiert	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
freudig erregt	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
verärgert	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
stark	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
schuldig	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
erschrocken	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
feindselig	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
angeregt	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
stolz	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
gereizt	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
begeistert	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
beschämt	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
wach	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
nervös	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
entschlossen	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
aufmerksam	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
durcheinander	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
ängstlich	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

### Visuelle Analogskalen (Symptomskalen)

Die Skalen waren im Original 10cm lang.

Welche der nachstehend genannten **Symptome** verspüren Sie **aktuell**?

*(Bitte kreuzen Sie auf der Linie jeweils die Stelle an,  
die Ihre Einschätzung am besten zum Ausdruck bringt.)*


**1. Trockener Husten**

überhaupt nicht  sehr stark


**2. „Kratzen“ im Hals**

überhaupt nicht  sehr stark


**3. Husten mit Auswurf**

überhaupt nicht  sehr stark


**4. Pfeifendes / brummendes Atemgeräusch**

überhaupt nicht  sehr stark


**5. Engegefühl in der Brust**

überhaupt nicht  sehr stark


**6. Atemnot**

überhaupt nicht  sehr stark

**7. Niesen**

überhaupt nicht  sehr stark


**8. Fließschnupfen**

überhaupt nicht  sehr stark


Welche der nachstehend genannten **Symptome** verspüren Sie **aktuell**?

*(Bitte kreuzen Sie auf der Linie jeweils die Stelle an,  
die Ihre Einschätzung am besten zum Ausdruck bringt.)*


**9. Stockschnupfen (verstopfte Nase)**

überhaupt nicht  sehr stark


**10. Kopfschmerzen**

überhaupt nicht  sehr stark


**11. Schwindelgefühl**

überhaupt nicht  sehr stark


**12. Kreislaufstörungen**

überhaupt nicht  sehr stark


**13. Reizung der Augen**

überhaupt nicht  sehr stark


**14. Juckreiz der Haut**

überhaupt nicht  sehr stark

**15. Hautausschlag**

überhaupt nicht  sehr stark

**16. Übelkeit**

überhaupt nicht  sehr stark

Wie war Ihr **Wohlbefinden** in der Kammer?

*(Bitte kreuzen Sie auf der Linie unten die Stelle an,  
die Ihre Einschätzung am besten zum Ausdruck bringt.)*


äußerst  
schlecht



äußerst  
gut


Wie **stark** haben Sie einen **Geruch** in der Kammer wahrgenommen?

*(Bitte kreuzen Sie auf der Linie unten die Stelle an,  
die Ihre Einschätzung am besten zum Ausdruck bringt.)*

gar nicht  äußerst stark

Wie sehr haben Sie sich durch einen **Geruch** in der Kammer **belästigt** gefühlt?

*(Bitte kreuzen Sie auf der Linie unten die Stelle an,  
die Ihre Einschätzung am besten zum Ausdruck bringt.)*

gar nicht  äußerst stark



Wie sehr haben Sie sich durch die **Druckeraktivität** in der Kammer  
insgesamt **beeinträchtigt** gefühlt?

*(Bitte kreuzen Sie auf der Linie unten die Stelle an,  
die Ihre Einschätzung am besten zum Ausdruck bringt.)*

gar  
nicht



äußerst  
stark

Freie Kommentare oder Anmerkungen:

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

### Druckerkontakt

Elfseitiger eigens entworfener Fragebogen zur Vorlage beim Voruntersuchungstermin

Im Folgenden geht es um die Frage, wie weit Sie in Ihrem Alltag mit Druckern oder Kopiergeräten in Berührung kommen. Falls Sie eine Frage dazu haben, wenden Sie sich bitte an die Untersuchungsleiter.

**Teil 1: Gegenwärtige Situation**

1. Halten Sie sich **zurzeit** regelmäßig in einem Raum auf, in dem **Laserdrucker oder Kopiergeräte** in Betrieb sind?

☐ ja

☐ nein → In diesem Fall geht es weiter auf **Seite 5**.

Wenn es mehrere Räumlichkeiten mit Laserdruckern oder Kopiergeräten gibt, in denen Sie sich aufhalten, denken Sie bei den nächsten Fragen bitte an den Raum, in dem Sie sich **am längsten** aufhalten.

2. Halten Sie sich beruflich oder privat in diesem Raum auf?

☐ beruflich

☐ privat

☐ beruflich und privat

3. Welches Gerät ist in diesem Raum in Betrieb?

☐ Kopiergerät

☐ Laserdrucker

☐ beides

4. Bitte nennen Sie – falls bekannt – die Hersteller oder Modelle der Laserdrucker und/oder Kopiergeräte.

---

---

---

5. Seit wann halten Sie sich regelmäßig in dem Raum auf, in dem Laserdrucker oder Kopiergeräte in Betrieb sind?

Seit \_\_\_\_\_ Jahren

Pb: \_\_\_\_\_

6. An durchschnittlich wie vielen Tagen pro Woche halten Sie sich in dem Raum auf, in dem Laserdrucker oder Kopiergeräte in Betrieb sind?

<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
1	2	3	4	5	6	7
Tag/W.	Tage/W.	Tage/W.	Tage/W.	Tage/W.	Tage/W.	Tage/W.

7. An den Tagen, an denen Sie sich in dem Raum mit diesen Geräten aufhalten, wie viele Stunden verbringen Sie durchschnittlich in dem Raum?

<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
0 - 4	5 - 9	9 - 14	15 - 19	20 - 24
Std./Tag	Std./Tag	Std./Tag	Std./Tag	Std./Tag

8. Um was für einen Raum handelt es sich? (z.B. Einzelbüro, Großraumbüro, Wohnzimmer)

\_\_\_\_\_

9. Schätzen Sie bitte die Größe des Raumes: Der Raum ist etwa:

\_\_\_\_\_ m lang  
\_\_\_\_\_ m breit  
\_\_\_\_\_ m hoch

10. Wie viele Laserdrucker und/oder Kopiergeräte sind in dem Raum in Betrieb?

\_\_\_\_\_

11. Wie viele Seiten werden in dem Raum insgesamt pro Tag ungefähr gedruckt?

Ca. \_\_\_\_\_ Seiten/Tag

12. Wie viele Seiten werden in dem Raum insgesamt pro Tag ungefähr kopiert?

Ca. \_\_\_\_\_ Seiten/Tag

*Wenn es mehrere Räumlichkeiten mit Laserdruckern oder Kopiergeräten gibt, in denen Sie sich aufhalten, denken Sie bei den nächsten Fragen bitte an den Raum, in dem Sie sich **am zweitlängsten** aufhalten.*

*Wenn es lediglich den einen Raum gibt, den Sie in den bisherigen Fragen bereits beschrieben haben, dann geht es weiter auf **Seite 5**.*

**13.** Halten Sie sich beruflich oder privat in diesem Raum auf?

- ☐ beruflich  
☐ privat  
☐ beruflich und privat

**14.** Welches Gerät ist in diesem Raum in Betrieb?

- ☐ Kopiergerät  
☐ Laserdrucker  
☐ beides

**15.** Bitte nennen Sie – falls bekannt – die Hersteller oder Modelle der Laserdrucker und/oder Kopiergeräte.

---



---



---

**16.** Seit wann halten Sie sich regelmäßig in dem Raum auf, in dem Laserdrucker oder Kopiergeräte in Betrieb sind?

Seit \_\_\_\_\_ Jahren

**17.** An durchschnittlich wie vielen Tagen pro Woche halten Sie sich in dem Raum auf, in dem Laserdrucker oder Kopiergeräte in Betrieb sind?

- |                          |                          |                          |                          |                          |                          |                          |
|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
| <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 1                        | 2                        | 3                        | 4                        | 5                        | 6                        | 7                        |
| Tag/W.                   | Tage/W.                  | Tage/W.                  | Tage/W.                  | Tage/W.                  | Tage/W.                  | Tage/W.                  |

**18.** An den Tagen, an denen Sie sich in dem Raum mit diesen Geräten aufhalten, wie viele Stunden verbringen Sie durchschnittlich in dem Raum?

- |                          |                          |                          |                          |                          |
|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
| <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 0 - 4                    | 5 - 9                    | 9 - 14                   | 15 - 19                  | 20 - 24                  |
| Std./Tag                 | Std./Tag                 | Std./Tag                 | Std./Tag                 | Std./Tag                 |

Pb: \_\_\_\_\_

**19.** Um was für einen Raum handelt es sich? (z.B. Einzelbüro, Großraumbüro, Wohnzimmer)

\_\_\_\_\_

**20.** Schätzen Sie bitte die Größe des Raumes: Der Raum ist etwa:

\_\_\_\_\_ m lang

\_\_\_\_\_ m breit

\_\_\_\_\_ m hoch

**21.** Wie viele Laserdrucker und/oder Kopiergeräte sind in dem Raum in Betrieb?

\_\_\_\_\_

**22.** Wie viele Seiten werden in dem Raum insgesamt pro Tag ungefähr gedruckt?

Ca. \_\_\_\_\_ Seiten/Tag

**23.** Wie viele Seiten werden in dem Raum insgesamt pro Tag ungefähr kopiert?

Ca. \_\_\_\_\_ Seiten/Tag

Pb: \_\_\_\_\_

24. Halten Sie sich **zurzeit** regelmäßig in einem Raum auf, in dem **Tintenstrahldrucker** in Betrieb sind?

☐ ja

☐ nein → In diesem Fall geht es weiter auf **Seite 6**.

Wenn es mehrere Räumlichkeiten mit Tintenstrahldruckern gibt, in denen Sie sich aufhalten, denken Sie bei den nächsten Fragen bitte an den Raum, in dem Sie sich **am längsten** aufhalten.

25. Halten Sie sich beruflich oder privat in diesem Raum auf?

☐ beruflich

☐ privat

☐ beruflich und privat

26. Seit wann halten Sie sich regelmäßig in dem Raum auf, in dem Tintenstrahldrucker in Betrieb sind?

Seit \_\_\_\_\_ Jahren

27. An durchschnittlich wie vielen Tagen pro Woche halten Sie sich in dem Raum auf, in dem Tintenstrahldrucker in Betrieb sind?

<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
1	2	3	4	5	6	7
Tag/W.	Tage/W.	Tage/W.	Tage/W.	Tage/W.	Tage/W.	Tage/W.

28. An den Tagen, an denen Sie sich in dem Raum mit diesen Geräten aufhalten, wie viele Stunden verbringen Sie durchschnittlich in dem Raum?

<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
0 - 4	5 - 9	9 - 14	15 - 19	20 - 24
Std./Tag	Std./Tag	Std./Tag	Std./Tag	Std./Tag

29. Um was für einen Raum handelt es sich? (z.B. Einzelbüro, Großraumbüro, Wohnzimmer)

\_\_\_\_\_

30. Schätzen Sie bitte die Größe des Raumes: Der Raum ist etwa:

\_\_\_\_\_ m lang

\_\_\_\_\_ m breit

\_\_\_\_\_ m hoch

31. Wie viele Seiten werden in dem Raum insgesamt pro Tag mit einem Tintenstrahldrucker ungefähr gedruckt?

Ca. \_\_\_\_\_ Seiten/Tag



<b>Teil 2: Frühere Situation</b>
----------------------------------

Die folgenden Fragen beziehen sich auf mögliche Umstände in Ihrer Vergangenheit, die in Bezug auf Drucker oder Kopiergeräte eventuell anders waren als heute (z.B. aufgrund einer anderen Arbeits- oder Wohnsituation).

32. Haben Sie sich **früher (d.h. mit zeitlicher Unterbrechung zur jetzigen Situation)** schon einmal regelmäßig in einem Raum aufgehalten, in dem **Laserdrucker oder Kopiergeräte** in Betrieb waren?

☐ ja

☐ nein → In diesem Fall geht es weiter auf **Seite 10**.

*Wenn es mehrere Räumlichkeiten mit Laserdruckern oder Kopiergeräten gab, in denen Sie sich aufgehalten haben, denken Sie bei den nächsten Fragen bitte an den Raum, in dem Sie sich **am längsten** aufgehalten haben.*

33. Haben Sie sich beruflich oder privat in diesem Raum aufgehalten?

☐ beruflich

☐ privat

☐ beruflich und privat

34. Welches Gerät wurde in diesem Raum betrieben?

☐ Kopiergerät

☐ Laserdrucker

☐ beides

35. Bitte nennen Sie – falls Sie sich noch erinnern – die Hersteller oder Modelle der Laserdrucker und/oder Kopiergeräte.

---



---



---

36. Wie lange haben Sie sich regelmäßig in dem Raum aufgehalten, in dem Laserdrucker oder Kopiergeräte in Betrieb waren?

\_\_\_\_\_ Jahre

37. Bis wann haben Sie sich regelmäßig in dem Raum aufgehalten, in dem Laserdrucker oder Kopiergeräte in Betrieb waren?

\_\_\_\_\_ (z.B. 1995)

Pb: \_\_\_\_\_

- 38.** An durchschnittlich wie vielen Tagen pro Woche haben Sie sich in dem Raum aufgehalten, in dem Laserdrucker oder Kopiergeräte in Betrieb waren?

<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
1	2	3	4	5	6	7
Tag/W.	Tage/W.	Tage/W.	Tage/W.	Tage/W.	Tage/W.	Tage/W.

- 39.** An den Tagen, an denen Sie sich in dem Raum mit diesen Geräten aufgehalten haben, wie viele Stunden haben Sie sich durchschnittlich in dem Raum aufgehalten?

<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
0 - 4	5 - 9	9 - 14	15 - 19	20 - 24
Std./Tag	Std./Tag	Std./Tag	Std./Tag	Std./Tag

- 40.** Um was für einen Raum handelte es sich? (z.B. Einzelbüro, Großraumbüro, Wohnzimmer)

\_\_\_\_\_

- 41.** Schätzen Sie bitte die Größe des damaligen Raumes: Der Raum war etwa:

\_\_\_\_\_ m lang

\_\_\_\_\_ m breit

\_\_\_\_\_ m hoch

- 42.** Wie viele Laserdrucker und/oder Kopiergeräte waren in dem Raum in Betrieb?

\_\_\_\_\_

- 43.** Wie viele Seiten wurden in dem Raum insgesamt pro Tag ungefähr gedruckt?

Ca. \_\_\_\_\_ Seiten/Tag

- 44.** Wie viele Seiten wurden in dem Raum insgesamt pro Tag ungefähr kopiert?

Ca. \_\_\_\_\_ Seiten/Tag

*Wenn es mehrere Räumlichkeiten mit Laserdruckern oder Kopiergeräten gab, in denen Sie sich aufgehalten haben, denken Sie bei den nächsten Fragen bitte an den Raum, in dem Sie sich **am zweitlängsten** aufgehalten haben.*

*Wenn es lediglich den einen Raum gab, den Sie in den bisherigen Fragen bereits beschrieben haben, dann geht es weiter auf **Seite 10**.*

45. Haben Sie sich beruflich oder privat in diesem Raum aufgehalten?

- ☐ beruflich
- ☐ privat
- ☐ beruflich und privat

46. Welches Gerät wurde in diesem Raum betrieben?

- ☐ Kopiergerät
- ☐ Laserdrucker
- ☐ beides

47. Bitte nennen Sie – falls Sie sich noch erinnern – die Hersteller oder Modelle der Laserdrucker und/oder Kopiergeräte.

---

---

---

48. Wie lange haben Sie sich regelmäßig in dem Raum aufgehalten, in dem Laserdrucker oder Kopiergeräte in Betrieb waren?

\_\_\_\_\_ Jahre

49. Bis wann haben Sie sich regelmäßig in dem Raum aufgehalten, in dem Laserdrucker oder Kopiergeräte in Betrieb waren?

\_\_\_\_\_ (z.B. 1995)

Pb: \_\_\_\_\_

- 50.** An durchschnittlich wie vielen Tagen pro Woche haben Sie sich in dem Raum aufgehalten, in dem Laserdrucker oder Kopiergeräte in Betrieb waren?

<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
1	2	3	4	5	6	7
Tag/W.	Tage/W.	Tage/W.	Tage/W.	Tage/W.	Tage/W.	Tage/W.

- 51.** An den Tagen, an denen Sie sich in dem Raum mit diesen Geräten aufgehalten haben, wie viele Stunden haben Sie sich durchschnittlich in dem Raum aufgehalten?

<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
0 - 4	5 - 9	9 - 14	15 - 19	20 - 24
Std./Tag	Std./Tag	Std./Tag	Std./Tag	Std./Tag

- 52.** Um was für einen Raum handelte es sich? (z.B. Einzelbüro, Großraumbüro, Wohnzimmer)

\_\_\_\_\_

- 53.** Schätzen Sie bitte die Größe des damaligen Raumes: Der Raum war etwa:

\_\_\_\_\_ m lang  
\_\_\_\_\_ m breit  
\_\_\_\_\_ m hoch

- 54.** Wie viele Laserdrucker und/oder Kopiergeräte waren in dem Raum in Betrieb?

\_\_\_\_\_

- 55.** Wie viele Seiten wurden in dem Raum insgesamt pro Tag ungefähr gedruckt?

Ca. \_\_\_\_\_ Seiten/Tag

- 56.** Wie viele Seiten wurden in dem Raum insgesamt pro Tag ungefähr kopiert?

Ca. \_\_\_\_\_ Seiten/Tag

57. Haben Sie sich **früher (d.h. mit zeitlicher Unterbrechung zur jetzigen Situation)** schon einmal regelmäßig in einem Raum aufgehalten, in dem **Tintenstrahldrucker** in Betrieb waren?

☐ ja

☐ nein → *In diesem Fall ist damit der Fragebogen für Sie beendet. Herzlichen Dank!*

*Wenn es mehrere Räumlichkeiten mit Tintenstrahldruckern gab, in denen Sie sich aufgehalten haben, denken Sie bei den nächsten Fragen bitte an den Raum, in dem Sie sich **am längsten** aufgehalten haben.*

58. Haben Sie sich beruflich oder privat in diesem Raum aufgehalten?

☐ beruflich

☐ privat

☐ beruflich und privat

59. Wie lange haben Sie sich regelmäßig in dem Raum aufgehalten, in dem Tintenstrahldrucker in Betrieb waren?

\_\_\_\_\_ Jahre

60. Bis wann haben Sie sich regelmäßig in dem Raum aufgehalten, in dem Tintenstrahldrucker in Betrieb waren?

\_\_\_\_\_ (z.B. 1995)

61. An durchschnittlich wie vielen Tagen pro Woche haben Sie sich in dem Raum aufgehalten, in dem Tintenstrahldrucker in Betrieb waren?

<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
1	2	3	4	5	6	7
Tag/W.	Tage/W.	Tage/W.	Tage/W.	Tage/W.	Tage/W.	Tage/W.

62. An den Tagen, an denen Sie sich in dem Raum mit diesen Geräten aufgehalten haben, wie viele Stunden haben Sie sich durchschnittlich in dem Raum aufgehalten?

<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
0 - 4	5 - 9	9 - 14	15 - 19	20 - 24
Std./Tag	Std./Tag	Std./Tag	Std./Tag	Std./Tag

Pb: \_\_\_\_\_

**63.** Um was für einen Raum handelte es sich? (z.B. Einzelbüro, Großraumbüro, Wohnzimmer)

\_\_\_\_\_

**64.** Schätzen Sie bitte die Größe des Raumes: Der Raum war etwa:

\_\_\_\_\_ m lang

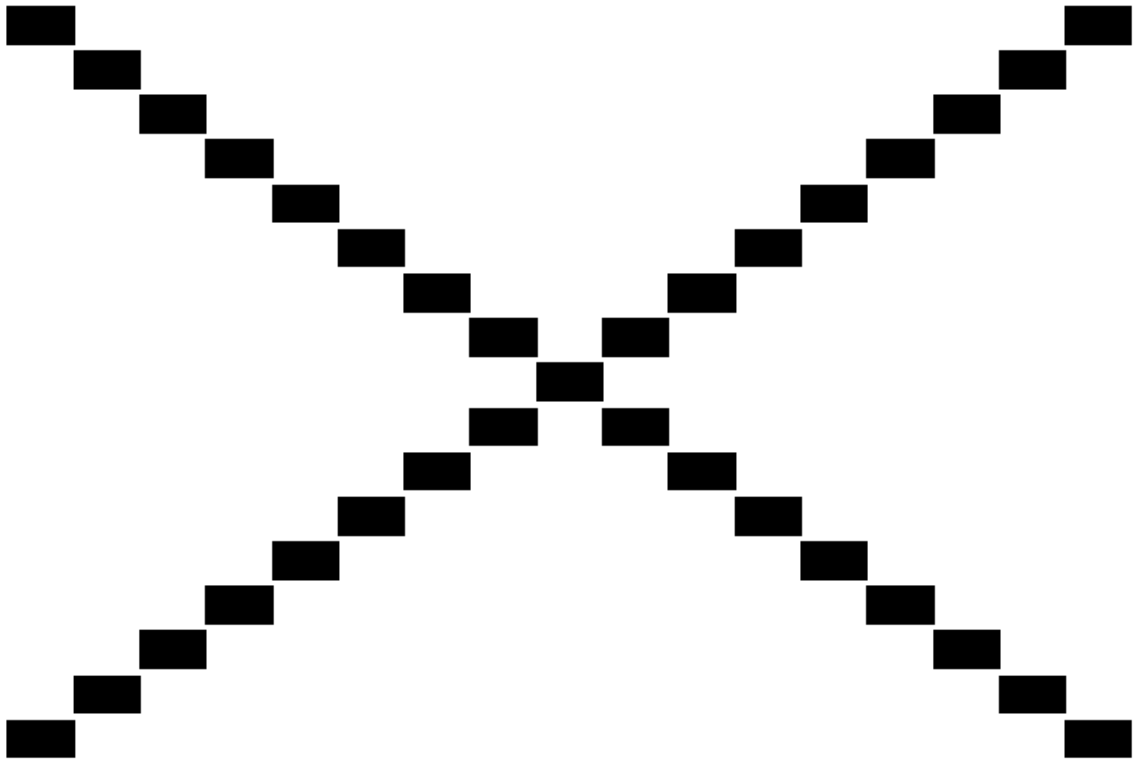
\_\_\_\_\_ m breit

\_\_\_\_\_ m hoch

**65.** Wie viele Seiten wurden in dem Raum insgesamt pro Tag mit einem Tintenstrahldrucker ungefähr gedruckt?

Ca. \_\_\_\_\_ Seiten/Tag

### III Druckmuster



*Abbildung 63: 5% Bedeckung nach Vorlage RAL-ZU 122.*





## IV Literatur im Expositionsraum

Maschek- Schneider, H.-J., *1000 Traumziele*, Naumann&Göbel Verlagsgesellschaft mbH, Köln, 2004

Knorr, P., Muhr, G., *Brehms Tierleben - Säugetiere*, area Verlag GmbH, Erfstadt, 2003

Gustav, J., *August Macke*, Alois Erdl Druck, Trostberg, 2001

Koch, H., *Carl Spitzweg*, Alois Erdl Druck, Trostberg, 2001

OSB Olympische Sportbibliothek, *Mit allen Sinnen*, Cloppenburg, 2007

Bildband *Mauritius 47*, 1998

Bildband Graphistock- *zefa Band 34*, zefa visual media, Düsseldorf



## V Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Ergebnisse der Arbeitskräfteerhebung 2007. Anteil an allen Erwerbstätigen mit Gesundheitsbeschwerden. [1]	9
Abbildung 2: Funktionsweise eines Laserdruckers [23]	14
Abbildung 3: Teilbild A: Partikeldeposition und sofortige Befeuchtung, Teilbild B: beginnendes, Teilbild C: vollständiges Eindringen in die wässrige Phase [53]	20
Abbildung 4: Ultraschallvernebler m. angeschlossenem Zweiwege-Ventilblock und Mundstück.	30
Abbildung 5: Verwendete Sauerstoffbrille	31
Abbildung 6: Vergleich von Laborwasser-Varianten auf den $H_2O_2$ -Gehalt.	35
Abbildung 7: Zur Analyse verwendetes Wasser im Cubitainer.	36
Abbildung 8: Typische Ursachen einer verminderten Diffusionskapazität [80].	37
Abbildung 9: Änderung der forcierten Einsekundenkapazität im Vergleich der Visiten.	39
Abbildung 10: Änderung der Diffusionskapazitäten in den beiden Visiten.	40
Abbildung 11: Verwendetes Messgerät für das exhalierte $CO$ .	52
Abbildung 12: Berechnung des alveolären $NO$ nach dem linearisierten Modell.[76]	53
Abbildung 13: Darstellung der Atemschleife (a), des Shutter-Manövers (b) und des forcierten Manövers (c) im Bodyplethysmographen.	55
Abbildung 14: Transport-Box für Mikrowell-Platten.	58
Abbildung 15, Tabelle 6: Beispiel für die Bestimmung des $H_2O_2$ -Gehaltes im Atemkondensat;	59
Abbildung 16: Bio-Plex Immunassay [109].	61
Abbildung 17: Beispiel für den Benton-Test; Der Proband muss aus diesen 4 Vorlagen die vorher gezeigte wählen.	67
Abbildung 18: Labyrinth-Test.	68
Abbildung 19: Dokumentations-Laptop mit Eingabebefehlen.	73
Abbildung 20: Aufbau der Expositions-kammer[131].	74
Abbildung 21: Expositionsraum.	75
Abbildung 22: Messung der Ozonkonzentration während des Druckbetriebs.	79
Abbildung 23: Verlauf der Partikelanzahlkonzentrationen [ $1/cm^3$ ] in der Expositions-kammer während LE-Exposition. Die Klammer kennzeichnet die Betriebsdauer des LE.	80
Abbildung 24: Verlauf der Partikelanzahlkonzentrationen [ $1/cm^3$ ] in der Expositions-kammer während HE-Exposition. Die Klammer kennzeichnet die Betriebsdauer des HE.	80
Abbildung 25: Partikelgrößenverteilung $<560$ nm über die gesamte Aufenthaltsdauer bei einer High Emitter-Exposition.	81
Abbildung 26: Sitzplatz des Probanden	83
Abbildung 27: Klimabedingungen im Verlauf der Expositionen (Beispiel DKEGES13).[130]	84
Abbildung 28: Übersicht über den Temperaturverlauf während des Aufenthaltes im Expositionsraum für die einzelnen Probanden. [130]	85
Abbildung 29: Low (LE) und High (HE) Emitter-Expositionen: Klimadaten und Druckintervall am Beispiel der Exposition DKEGES13.	86
Abbildung 30: EEPSTM und zugehöriger PC.	87
Abbildung 31: Vorkommen von bronchialer Hyperreagibilität in den einzelnen Gruppen (absolute Zahlen).	92

Abbildung 32: Boxplots CAUS. _____	94
Abbildung 33: Boxplots des Wohlbefindens in der Expositions-kammer. _____	96
Abbildung 34: Boxplots der Geruchsbelästigung in der Expositions-kammer. _____	96
Abbildung 35: Übersicht über die Symptome vor beiden Expositionen im Gruppenvergleich. ____	98
Abbildung 36: Übersicht über die Symptome nach den Expositionen im Gruppenvergleich. ____	99
Abbildung 37: Übersicht über die Änderung der Symptome nach den Expositionen im Gruppenvergleich. _____	101
Abbildung 38: Übersicht über die Änderung der Symptome (Scores) nach LE bzw. HE. _____	102
Abbildung 39: Änderung der Gesamtsymptome im Expositionsvergleich in den einzelnen Gruppen. _____	103
Abbildung 40: Übersicht über die Änderung der Symptome bei nicht hyperreagiblen und hyperreagiblen Probanden. _____	104
Abbildung 41: Übersicht der genannten Vorerkrankungen in % der Gruppenteilnehmer ____	106
Abbildung 42: Vorhandensein von Allergien (ohne separate Zählung einzelner Allergiemani-festationen), dargestellt als Anteil an der jeweiligen Gruppe. _____	106
Abbildung 43: Raucheranamnese der verschiedenen Probandengruppen. _____	107
Abbildung 44: Selbstberichtete Beschwerden der Betroffenen; prozentualer Anteil der Gruppenteilnehmer; Mehrfachnennungen waren häufig. _____	109
Abbildung 45: Ausgangswerte con Coe der einzelnen Probanden bei den drei Visiten (Voruntersuchung (VU) und zwei Expositionsvisiten). _____	112
Abbildung 46: Vorher-Nachher-Vergleich der CO <sub>e</sub> -Wert bei den zwei Expositionsvisiten. Auf die Angabe einer statistischen Signifikanz wurde verzichtet. _____	112
Abbildung 47: Vorher-Nachher-Vergleich von NO <sub>alv</sub> und NO <sub>bro</sub> der LE- und HE-Visite. _____	114
Abbildung 48: Forciertes Einsekundenvolumen im Vergleich der Expositionen. _____	115
Abbildung 49: Forcierte Vitalkapazität im Vergleich der Expositionen. _____	116
Abbildung 50: Intrathorakales Gasvolumen im Vergleich der Expositionen. _____	116
Abbildung 51: spezifischer Atemwegswiderstand im Vergleich der Expositionen. _____	117
Abbildung 52: Boxplot der Ausgangswerte für sR <sub>tot</sub> . _____	117
Abbildung 53: Diffusionskapazität für NO im Vergleich der Expositionen. _____	119
Abbildung 54: Diffusionskapazität für NO, relativ zum Alveolarvolumen, im Vergleich der Expositionen. _____	120
Abbildung 55: Diffusionskapazität für CO im Vergleich der Expositionen (Werte korrigiert für CO im Blut). _____	120
Abbildung 56: Diffusionskapazität für CO, relativ zum Alveolarvolumen, im Vergleich der Expositionen (Werte korrigiert für CO im Blut). _____	121
Abbildung 57: Alveolarvolumen im Vergleich der Expositionen. _____	121
Abbildung 58: ECP-Konzentrationen im Vorher-Nachher-Vergleich der Expositionen. _____	123
Abbildung 59: Gesamt-IgE-Konzentrationen im Vergleich der Expositionen. _____	124
Abbildung 60: Ergebnisse bei 5 Testpersonen, bei denen zur Kontrolle zweimal am selben Tag Atemkondensat gesammelt und auf den Gehalt von H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> untersucht wurde. _____	125
Abbildung 61: H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> -Konzentrationen im EBC im Vergleich der Expositionen. _____	126
Abbildung 62: Serum-IL-6 und nasales IL-6 im Vergleich der Expositionen. _____	128
Abbildung 63: 5% Bedeckung nach Vorlage RAL-ZU 122. _____	193

## VI Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Studienprotokoll der Vorstudie. _____	26
Tabelle 2: Anthropometrische Daten (Mittelwerte und SD). _____	39
Tabelle 3: Übersicht der Ergebnisse der Vorstudie _____	41
Tabelle 4: Änderungen und Signifikanz nach Exposition und Signifikanzniveaus (p-Werte im Wilcoxon-Test). _____	41
Tabelle 5: Ein- und Ausschlusskriterien _____	49
Abbildung 15, Tabelle 6: Beispiel für die Bestimmung des H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> -Gehaltes im Atemkondensat _	59
Tabelle 7: Ablauf der beiden Expositionen gegenüber LDS. _____	72
Tabelle 8: PER <sub>10</sub> -Werte der für die Expositionen ausgewählten LDS. _____	77
Tabelle 9: Übersicht der in den Laserdruckeraerosolen nachgewiesenen Elemente und Verbindungen. [130] _____	77
Tabelle 10: Anthropometrische Daten. _____	92
Tabelle 11: Übersicht der Ergebnisse (Scores) der psychologischen Fragebögen. _____	95
Tabelle 12: Übersicht Wohlbefinden (Scores, beide Expositionen) in der Expositions-kammer. _	97
Tabelle 13: Übersicht der Vorher-Symptome (Scores, beide Expositionen) _____	98
Tabelle 14: Übersicht der Nachher-Symptome (Scores, beide Expositionen) _____	99
Tabelle 15: Übersicht der Veränderungen der Symptome (Scores) in beiden Expositionen. __	100
Tabelle 16: Übersicht der Symptome (Scores) im Vergleich von HE und LE. _____	102
Tabelle 17: Übersicht Veränderung der Symptome (Scores, beide Expositionen) bei Probanden mit und ohne BHR _____	103
Tabelle 18: Übersicht zum Druckerkontakt der Probanden. _____	108
Tabelle 19: Ergebnisse für ECP in den einzelnen Gruppen _____	122
Tabelle 20: Ergebnisse für Gesamt-IgE in den einzelnen Gruppen _____	123
Tabelle 21: Ergebnisse für H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> im Atemkondensat für die einzelnen Gruppen _____	126
Tabelle 22: Physiologische Konzentrationen der Zytokine im Serum [149] _____	129



## VII Literaturverzeichnis

1. Grau, A., Statistisches Bundesamt. *Gesundheitsrisiken am Arbeitsplatz*. 2009; [https://www.destatis.de/DE/Publikationen/STATmagazin/Arbeitsmarkt/2009\\_09/2009\\_09PDF.pdf?\\_\\_blob=publicationFile](https://www.destatis.de/DE/Publikationen/STATmagazin/Arbeitsmarkt/2009_09/2009_09PDF.pdf?__blob=publicationFile).
2. Grobe, T. *Gesundheitsreport 2013 – Veröffentlichungen zum Betrieblichen Gesundheitsmanagement der TK, Band 28*. 2013; <http://www.tk.de/centaurus/servlet/contentblob/516416/Datei/84352/Gesundheitsreport-2013.pdf>.
3. Paridon, H., et al., *Ausmaß, Stellenwert und betriebliche Relevanz psychischer Belastungen bei der Arbeit - Ergebnisse einer Befragung von Arbeitsschutzexperten*.
4. Tietjen G.E., et al., *Headache symptoms and indoor environmental parameters: Results from the EPA BASE study*. Annals of Indian Academy of Neurology, 2012. **15**(5): p. 95-9.
5. Zhang, X., et al., *Dampness and moulds in workplace buildings: associations with incidence and remission of sick building syndrome (SBS) and biomarkers of inflammation in a 10 year follow-up study*. Sci total Environ, 2012. **430**: p. 75-81.
6. Burge, P.S., *Sick building syndrome*. Occupational and environmental medicine, 2004. **61**(2): p. 185-190.
7. Que, Z.-L., et al., *Assessment on emission of volatile organic compounds and formaldehyde from building materials*. Composites Part B: Engineering, 2013. **49**(0): p. 36-42.
8. [http://www.epa.gov/iaq/pdfs/sick\\_building\\_factsheet.pdf](http://www.epa.gov/iaq/pdfs/sick_building_factsheet.pdf); .
9. Wargocki, P., et al., *Perceived air quality, sick building syndrome (SBS) symptoms and productivity in an office with two different pollution loads*. Indoor Air, 1999. **9**(3): p. 165-179.
10. Yoshida, T., et al., *[Clinical findings of the patients with sick building syndrome and the results of environmental measurement]*. Sangyo eiseigaku zasshi = Journal of occupational health, 2011. **53**(2): p. 25-32.
11. Joshi, S., *The sick building syndrome*. Indian J Occup Environ Med 2008. **12**: p. 61-4.
12. *IFA Report 1/2013 Grenzwerteliste 2013, Sicherheit und Gesundheitsschutz am Arbeitsplatz*, Deutsche Gesetzliche Unfallversicherung (DGUV): Berlin.
13. *Air Quality Guidelines: Global Update 2005: Particulate Matter, Ozone, Nitrogen Dioxide and Sulfur Dioxide*, World Health Organization.
14. Umweltbundesamt, *Beurteilung von Innenraumluftkontaminationen mittels Referenz- und Richtwerten – Handreichung der Ad-hoc-Arbeitsgruppe der Innenraumluft hygiene-*

Kommission des Umweltbundesamtes und der Obersten Landesgesundheitsbehörden.  
Bundesgesundheitsbl. Gesundheitsforsch. Gesundheitsschutz, 2007. **50**(7): p. 990–1005.

15. Epstein, Y., [*Sick building syndrome*]. Harefuah, 2008. **147**(7): p. 607-8.
16. Runeson, R., et al., *Personal and psychosocial factors and symptoms compatible with sick building syndrome in the Swedish workforce*. Indoor Air, 2006. **16**(6): p. 445-453.
17. Kinman, G. and M. Griffin, *Psychosocial factors and gender as predictors of symptoms associated with sick building syndrome*. Stress and Health, 2008. **24**(2): p. 165-171.
18. Edvardsson, B., et al., *Coping and self-image in patients with symptoms attributed to indoor environment*. Archives of Environmental & Occupational Health, 2013. **68**(3): p. 145-152.
19. Karjalainen, S., *Thermal comfort and gender: a literature review*. Indoor Air, 2012. **22**(2): p. 96-109.
20. Sahlberg, B., et al., *Onset of mucosal, dermal, and general symptoms in relation to biomarkers and exposures in the dwelling: a cohort study from 1992 to 2002*. Indoor Air, 2012. **22**(4): p. 331-338.
21. Edvardsson, B., et al., *Medical and social prognoses of non-specific building-related symptoms (Sick Building Syndrome): a follow-up study of patients previously referred to hospital*. International archives of occupational and environmental health, 2008. **81**(7): p. 805-812.
22. BITKOM, *Drucker, Kopier- und Multifunktionsgeräte - Sicherheit, Gesundheit und Umwelt*. BITKOM - Bundesverband Informationswirtschaft, Telekommunikation und neue Medien e.V. in Zusammenarbeit mit Verwaltungs-Berufsgenossenschaft und Fachausschuss Verwaltung, 2002.
23. BITKOM, *Präsentation Benutzersicherheit von Laserdruck- und Kopiersystemen*, 2010.
24. Barthel, M., et al. *Erfassung der Zahl feiner und ultrafeiner Partikel aus Bürogeräten während der Druckphase zur Entwicklung eines Prüfverfahrens für das Umweltzeichen Blauer Engel für Bürogeräte mit Druckfunktion* 2013;  
[http://www.umweltbundesamt.de/sites/default/files/medien/378/publikationen/texte\\_74\\_2013\\_pruefverfahren\\_partikel\\_aus\\_buerogeraeten\\_turner\\_neues\\_deckblatt\\_1.pdf](http://www.umweltbundesamt.de/sites/default/files/medien/378/publikationen/texte_74_2013_pruefverfahren_partikel_aus_buerogeraeten_turner_neues_deckblatt_1.pdf).
25. Barthel, M., et al., *XRF-Analysis of Fine and Ultrafine Particles Emitted from Laser Printing Devices*. Environmental Science & Technology, 2011. **45**(18): p. 7819-7825.
26. Barthel, M., et al., *Partikelemissionen aus Laserdruckern – Aktueller Sachstand*, in *UMID. Umwelt und Mensch – Informationsdienst* 2012, Bundesamt für Strahlenschutz (BfS), Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR), Robert Koch-Institut (RKI), Umweltbundesamt (UBA).
27. Seeger, S., et al. *Time- and size-resolved characterization of particle emissions from office machines*. in *Proc. Int. Conf. Healthy Buildings*. 2006. Lissabon.



28. Afshari, A., Matson, U., Ekberg, L.E., *Characterization of indoor sources of fine and ultrafine particles. A study conducted in a full-scale chamber.* Indoor Air, 2005. **15**(2): p. 141-150.
29. Rödelberger, K., et al., *Abschlussbericht zum Projekt F 2075 „Charakterisierung ultrafeiner Teilchen für den Arbeitsschutz – Teil 2“ im Auftrag der Bundesanstalt für Arbeitsschutz und Arbeitsmedizin* 2009.
30. Wichmann, H.E., J. Heinrich, and A. Peters, *Gesundheitliche Wirkungen von Feinstaub*, in *Fortschritte in der Umweltmedizin* 2002, Wichmann, H.E., Schlipkötter, H.W., Fülgraff, F. : Ecomed-Verlags-Gesellschaft.
31. Wichmann, H.E., *Epidemiologie ultrafeiner Teilchen. BIA-Report*, 2003: St. Augustin. p. 53-86.
32. Abt, E., et al., *Characterization of indoor particle sources.* Environmental Health Perspectives, 2000. **108**(1): p. 35–44.
33. Ibaldo-Mulli, A., et al., *Epidemiological evidence on health effects of ultrafine particles* Journal of Aerosol Medicine 2002. **15**(2): p. 189-201.
34. Politis, M., C. Pilinis, and T.D. Lekkas, *Ultrafine particles (UFP) and health effects. Dangerous. Like no other PM? Review and analysis.* Global NEST Journal, 2008. **10**(3): p. 439-452.
35. Wittczak, T., et al., *Occupational asthma and allergic rhinitis due to xerographic toner.* Allergy, 2003. **58**(9): p. 957.
36. Gallardo, M., et al., *Siderosilicosis due to photocopier toner dust.* Lancet, 1994. **344**(8919): p. 412-3.
37. Armbruster, C., G. Dekan, and A. Hovorka, *Granulomatous pneumonitis and mediastinal lymphadenopathy due to photocopier toner dust.* Lancet, 1996. **348**(9028): p. 690.
38. Armbruster, C., G. Dekan, and A. Hovorka, *Photocopier toner dust and lung disease.* The Lancet, 1996. **348**(9040): p. 1518-1519.
39. Khatri, M., et al., *Nanoparticles from photocopiers induce oxidative stress and upper respiratory tract inflammation in healthy volunteers.* Nanotoxicology. **0**(0): p. 1-14.
40. Macintyre, N., et al., *Standardisation of the single-breath determination of carbon monoxide uptake in the lung.* European Respiratory Journal, 2005. **26**(4): p. 720-735.
41. Mersch-Sundermann, V., et al., *Effect of laser printer emission exposure on human health—Investigation of six patients including ESR measurements.* Toxicology letters, 2011. **205**: p. S223.
42. Jensen, M. and J. Rold-Petersen, *Itching erythema among post office workers caused by a photocopying machine with wet toner.* Contact dermatitis, 1979. **5**(6): p. 389-391.
43. 3sat, *Krebs aus dem Drucker- Mediziner befürchten Schaden durch Tonerstaub*, in *nano*2010.

44. Krull, D., *Gefährlicher Feinstaub aus Laserdruckern*, in *NDR Markt*2013.
45. Rögner, W., *Krankheitsrisiko Laserdrucker- Toner im Tumor* in *Süddeutsche Zeitung*2010.
46. Doebele, K., *Justizministerium lässt 4033 Drucker verschrotten*, in *Hannoversche Allgemeine*2012: Hannover.
47. Gerber, T., *Risikovermeidung- Gesundheitsgefahren durch Laserdrucker bannen*, in *c't magazin*2013.
48. <https://www.nano-control.de>. 2013 08.06.2013].
49. Gminski, R., Mersch- Sundermann V., *Gesundheitliche Bewertung der Exposition gegenüber Tonerstäuben und gegenüber Emissionen aus Laserdruckern und Kopiergeräten- aktueller Erkenntnisstand*. *Umweltmedizin in Forschung und Praxis*, 2006. **11**(5): p. 269-300.
50. Geiser, M., Kreyling, W., *Deposition and biokinetics of inhaled nanoparticles*. *Particle and Fibre Toxicology*, 2010. **7**(1): p. 2.
51. Kreyling, W.G., et al., *Differences in the biokinetics of inhaled nano- versus micrometer-sized particles*. *Accounts of Chemical Research*, 2012. **46**(3): p. 714-722.
52. Lynch, I., Dawson, K.A., *Protein-nanoparticle interactions*. *Nano Today*, 2008. **3**(1–2): p. 40-47.
53. Kreyling, W.G., Geiser, M., *Dosimetry of inhaled nanoparticles*, in *Nanoparticles in medicine and environment*, J.C. Marijnissen and L. Gradon, Editors. 2010, Springer Netherlands. p. 145-171.
54. Simkó M., et al. *Nanopartikel, Freie Radikale und oxidativer Stress*. 2009; <http://epub.oew.ac.at/ita/nanotrust-dossiers/dossier012.pdf>.
55. Morimoto, Y., et al., *Negative effect of long-term inhalation of toner on formation of 8-hydroxydeoxyguanosine in DNA in the lungs of rats in vivo*. *Inhalation toxicology*, 2005. **17**(13): p. 749-53.
56. Fröhlich, E., et al., *Cytotoxicity of nanoparticles independent from oxidative stress*. *The Journal of Toxicological Sciences*, 2009. **34**(4): p. 363-375.
57. Kreyling, W.G., Semmler-Behnke, M., *Inhalative und orale Aufnahme und Toxikokinetik von synthetischen Nanopartikeln*, in *LGL Symposium: Chancen und Risiken der Nanotechnologie: Sicherheitsforschung in Bayern*2010, Helmholtz Zentrum München.
58. Stampfl, A., et al., *Langendorff Heart: A model system to study cardiovascular effects of engineered nanoparticles*. *ACS Nano*, 2011. **5**(7): p. 5345-5353.
59. Ehret, M., et al., *Wirkung einer kurzzeitigen Inhalation von hypertoner Kochsalzlösung oder Sauerstoff auf nichtinvasive Lungenfunktionsmarker bei Gesunden*. *Pneumologie*, 2013. **67**(S 01): p. V422.

60. Jones, P.D., et al., *The tolerability, safety, and success of sputum induction and combined hypertonic saline challenge in children*. American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine, 2001. **164**(7): p. 1146-1149.
61. Smith, C.M., Anderson, S.D., *Inhalational challenge using hypertonic saline in asthmatic subjects: a comparison with responses to hyperpnoea, methacholine and water*. European Respiratory Journal, 1990. **3**(2): p. 144-151.
62. Zuiker, R.G., et al., *Sputum induction with hypertonic saline reduces fractional exhaled nitric oxide in chronic smokers and non-smokers*. Respir Med, 2010. **104**(6): p. 917-20.
63. Beier, J., et al., *Sputum induction leads to a decrease of exhaled nitric oxide unrelated to airflow*. European Respiratory Journal, 2003. **22**(2): p. 354-357.
64. Antczak, A., et al., *Inflammatory Response to Sputum Induction Measured by Exhaled Markers*. Respiration, 2005. **72**(6): p. 594-599.
65. Holz, O., et al., *Changes in sputum composition between two inductions performed on consecutive days*. Thorax, 1998. **53**(2): p. 83-86.
66. Markovitz, G.H., et al., *Effective inspired oxygen concentration measured via transtracheal and oral gas analysis*. Respir Care 2010. **55**: p. 453-459.
67. Wettstein, R.B., D.C. Shelledy, and J.I. Peters, *Delivered oxygen concentrations using low-flow and high-flow nasal cannulas*. Respiratory Care, 2005. **50**(5): p. 604-609.
68. Pagano, A. and C. Barazzzone-Argiroffo, *Alveolar cell death in hyperoxia-induced lung injury*. Annals of the New York Academy of Sciences, 2003. **1010**(1): p. 405-416.
69. Mantell, L.L., et al., *Hyperoxia-induced cell death in the lung-the correlation of apoptosis, necrosis, and inflammation*. Annals of the New York Academy of Sciences, 1999. **887**(1): p. 171-180.
70. Carpagnano, G.E., et al., *Supplementary oxygen in healthy subjects and those with COPD increases oxidative stress and airway inflammation*. Thorax, 2004. **59**(12): p. 1016-1019.
71. Loukides, S., P. Bakakos, and K. Kostikas, *Exhaled breath condensate: hydrogen peroxide*. Exhaled Biomarkers, 2010(49): p. 162-172.
72. Radomski, M.W., R.M. Palmer, and S. Moncada, *Glucocorticoids inhibit the expression of an inducible, but not the constitutive, nitric oxide synthase in vascular endothelial cells*. Proceedings of the National Academy of Sciences, 1990. **87**(24): p. 10043-10047.
73. Assreuy, J., et al., *Feedback inhibition of nitric oxide synthase activity by nitric oxide*. British Journal of Pharmacology, 1993. **108**(3): p. 833-837.
74. Palmer, R.M., et al., *Induction of nitric oxide synthase in human chondrocytes*. Biochemical and biophysical research communications, 1993. **193**(1): p. 398-405.
75. An Official, A., *American Thoracic Society Documents*. Am J Respir Crit Care Med, 2011. **184**: p. 602-615.

76. Tsoukias, N.M. and S.C. George, *A two-compartment model of pulmonary nitric oxide exchange dynamics*. Journal of Applied Physiology, 1998. **85**(2): p. 653-666.
77. Horvath, I., et al., *Combined use of exhaled hydrogen peroxide and nitric oxide in monitoring asthma*. American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine, 1998. **158**(4): p. 1042-1046.
78. Peters, S., et al., *Wasserstoffperoxid in der Ausatemluft: Eine Fehlerquelle, eine Paradoxie und ihre Auflösung*, in 53. Kongress der Deutschen Gesellschaft für Pneumologie und Beatmungsmedizin e.V.2012: Nürnberg.
79. Filser, L., *Messung der kombinierten Diffusionskapazität für Kohlenmonoxid und Stickstoffmonoxid bei Gesunden und Patienten mit Atemwegs-und Lungenerkrankungen*, 2012, Imu.
80. Artmann, F., et al., *Die Diffusionskapazität in der täglichen Praxis*. Atemw.-Lungenkrkh., 2009. **35**(1): p. 10-17.
81. Dressel, H., et al., *Lung diffusing capacity for nitric oxide and carbon monoxide: dependence on breath-hold time*. Chest, 2008. **133**(5): p. 1149-1154.
82. ATS, *Standardisation of the single-breath determination of carbon monoxide uptake in the lung*, in *ATS/ERS Task force: Standardisation of lung function testing*, V. Brusasco, Crapo, R. and Viegi, G., Editor 2005: Eur Respir J. p. 720-735.
83. v.d.Heyden, T., 2014: Institut für Arbeitsschutz der Deutschen Gesetzlichen Unfallversicherung (IFA), Sankt Augustin.
84. Luszpinski, M.-A., *Biologische Effekte gegenüber Nanopartikeln bei Benutzung handelsüblicher Drucker*, 2012, Imu.
85. <http://www.merkur-online.de/service/gesundheit/allgemein/gefaehrlich-sind-laserdrucker-2458637.html>. 09.06.2013].
86. Josephs, L.K., et al., *Nonspecific bronchial reactivity and its relationship to the clinical expression of asthma: A longitudinal study*. American Review of Respiratory Disease, 1989. **140**(2): p. 350-357.
87. Banks, D.E., et al., *Absence of hyperresponsiveness to methacholine in a worker with methylene diphenyl diisocyanate (MDI)-induced asthma*. CHEST Journal, 1986. **89**(3): p. 389-393.
88. Mohsenifar, Z., Tashkin, D.P., *Effect of carboxyhemoglobin on the single breath diffusing capacity: Derivation of an empirical correction factor*. Respiration, 1979. **37**(4): p. 185-191.
89. Zavorsky, G.S., *The rise in carboxyhemoglobin from repeated pulmonary diffusing capacity tests*. Respiratory Physiology & Neurobiology, 2013. **186**(1): p. 103-108.
90. Graham, B.L., J.T. Mink, and D.J. Cotton, *Improved accuracy and precision of single-breath CO diffusing capacity measurements*. Journal of Applied Physiology, 1981. **51**(5): p. 1306-1313.

91. Graham, B.L., J.T. Mink, and D.J. Cotton, *Effects of increasing carboxyhemoglobin on the single breath carbon monoxide diffusing capacity*. American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine, 2002. **165**(11): p. 1504-1510.
92. ATS, *Standardisation of spirometry*, in *ATS/ERS Task force: Standardisation of lung function testing*, V. Brusasco, Crapo, R. and Viegi, G., Editor 2005, Eur Respir J p. 319–338.
93. Nowak, D., et al., *Prevalence of respiratory symptoms, bronchial hyperresponsiveness and atopy among adults: west and east Germany*. European Respiratory Journal, 1996. **9**(12): p. 2541-2552.
94. Huber, H., et al., *Randomisierte Doppelblindstudie (third place blinded) zur Untersuchung der Wirksamkeit und Nebenwirkungen von Methacholin im unspezifischen bronchialen Provokationstest*. Pneumologie, 2000. **54**(3): p. 99-103.
95. Birnbaum, S., Barreiro, T.J., *Methacholine challenge testing*. Chest, 2007. **131**(6): p. 1932-1935.
96. <http://en.wikipedia.org/wiki/Methacholine>. 19.01.2012].
97. Arbeitskreis "Bronchiale Provokationstests": *Leitlinien für die Durchführung bronchialer Provokationstests mit pharmakologischen Substanzen*. Pneumologie, 1998. **52**: p. 214-220.
98. <http://www.thoracic.org/statements/resources/pfet/methacholine1-21.pdf>, *Guidelines for Methacholine and Exercise Challenge Testing-1999*.
99. Nieminen, M.M., et al., *Methacholine bronchial challenge using a dosimeter with controlled tidal breathing*. Thorax, 1988. **43**(11): p. 896–900.
100. Burdach, S., Laws, H. J., *Zytokine und Zytokinantagonisten*, in *Therapie der Krankheiten im Kindes- und Jugendalter*, D. Reinhardt, Editor 2007, Springer Berlin Heidelberg. p. 2033-2041.
101. Dinarello, C.A., *Biology of interleukin 1*. The FASEB Journal, 1988. **2**(2): p. 108-15.
102. *IL5 interleukin 5 (colony-stimulating factor, eosinophil) [ Homo sapiens (human) ] Gene ID: 3567*, N.C.f.B. Information, Editor 2013.
103. Heinrich, P.C., J.V. Castell, and T. Andus, *Interleukin-6 and the acute phase response*. Biochemical Journal, 1990. **265**(3): p. 621.
104. Tamura, T., et al., *Soluble interleukin-6 receptor triggers osteoclast formation by interleukin 6*. Proceedings of the National Academy of Sciences, 1993. **90**(24): p. 11924-11928.
105. Baggiolini, M., Clark-Lewis, I., *Interleukin-8, a chemotactic and inflammatory cytokine*. FEBS letters, 1992. **307**(1): p. 97-101.
106. Metcalf, D., *The molecular biology and functions of the granulocyte-macrophage colony-stimulating factors*. Blood, 1986. **67**(2): p. 257-267.

107. Schroder, K., et al., *Interferon- $\gamma$ : an overview of signals, mechanisms and functions*. Journal of Leukocyte Biology, 2004. **75**(2): p. 163-189.
108. Van Deventer, S., *Tumour necrosis factor and Crohn's disease*. Gut, 1997. **40**(4): p. 443.
109. Bio-Rad Laboratories, I., *Bio-Plex Pro assays diabetes instruction manual*.
110. Ferencik, M., et al., *Kompedium der Immunologie* 2006: Springer.
111. B&SZentrallabor. *Eosinophiles Kationisches Protein (ECP)*. 24.11.2013]; [http://www.bs-lab.at/index\\_html?sc=10722&task=paramdetail&ID=289](http://www.bs-lab.at/index_html?sc=10722&task=paramdetail&ID=289).
112. Khatri, M., et al., *Toxicological effects of PM<sub>0.25</sub>–2.0 particles collected from a photocopy center in three human cell lines*. Inhalation toxicology, 2013. **25**(11): p. 621-632.
113. Neofytou, E., et al., *DNA Damage Due to Oxidative Stress in Chronic Obstructive Pulmonary Disease (COPD)*. International Journal of Molecular Sciences, 2012. **13**(12): p. 16853-16864.
114. Brickenkamp, R., *Test d2 - Aufmerksamkeits-Belastungs-Test (9., überar. und neu normierte Aufl.)* 2002, Göttingen: Hogrefe.
115. Fietze, I., Strauch, J., Holzhausen, M., Glos, M., Theobald, C., Lehnkering, H., Penzel, T., *Sleep quality in professional ballet dancers*. Chronobiol Int, 2009. **26**(6): p. 249-1262.
116. Leyhe, T., Müssig, K., Weinert, C., Laske, C., Häring, H.U., Saur, R., Klingberg, S., Gallwitz, B., *Increased occurrence of weaknesses in attention testing in patients with Hashimoto's thyroiditis compared to patients with other thyroid illnesses*. Psychoneuroendocrino, 2008. **33**(10): p. 1432-1436.
117. Reimann, F.M., Samson, U., Derad, I., Fuchs, M., Schiefer, B., Stange, E.F., *Synergistic sedation with low-dose midazolam and propofol for colonoscopies*. Endoscopy, 2000. **32**: p. 239–244.
118. Seidl, R., Peyrl, A., Nicham, R., Hauser, E., *A taurine and caffeine-containing drink stimulates cognitive performance and well-being*. Amino Acids, 2000. **19**: p. 635–642.
119. Benton, A.L., *Der Benton-Test (8., überarb. Aufl.), dt. Bearbeitung von A. Benton Sivan und O. Spreen* 2009, Göttingen: Hogrefe.
120. Bobić, J., Gomzi, M., *Memory and concentration efficiency in workers professionally exposed to xylene*. Stud Psychol, 2004. **46**(1): p. 65-72.
121. Messinis, L., Lyros, E., Georgiou, V., Papathanasopoulos, P., *Benton Visual Retention Test performance in normal adults and acute stroke patients: Demographic considerations, discriminant validity, and test–retest reliability*. Clin Neuropsychol, 2009. **23**(6): p. 962-977.
122. Waldstein, S.R., Wendell, C., Seliger, S.L., Ferrucci, L., Metter, E.J., Zonderman, A.B., *Non-steroidal antiinflammatory drugs, aspirin, and cognitive function in the Baltimore Longitudinal Study of Aging*. J Am Geriatr Soc, 2010. **58**(1): p. 38-43.

123. Klauer, K.-J., *Handbuch Kognitives Training (2. erweiterte Auflage)* 2001, Göttingen: Hogrefe.
124. Ackerman, P., Cianciolo, AT, *Psychomotor abilities via touch-panel testing: Measurement innovations, construct, and criterion validity*. Hum Perform, 1999. **12**(3-4): p. 231-273.
125. Ghatan, P.H., M. Ingvar, L. Eriksson, S. Stone-Elander, M. Serrander, K. Ekberg, J. Wahren, *Cerebral effects of nicotine during cognition in smokers and non-smokers*. Psychopharmacology, 1998. **136**(2): p. 179-189.
126. Tirosh E., S.P.-D., M. Davidovitch, S. Hocherman *Visuomotor Tracking Related to Attention-Deficit Hyperactivity Disorder (ADHD)*. J Child Neurol, 2006. **21**(6): p. 502-507.
127. Kiesswetter, E., 'Multiple chemical sensitivity', *the relevance of toxic, neurobiological and psychic effect mechanisms*. Zentralblatt für Hygiene und Umweltmedizin 1999. **202**(2-4): p. 191-205
128. Watson D., Clark L., and A. Tellegen, *Development and validation of brief measures of positive and negative affect: The PANAS scales*. Journal of personality and social psychology, 1988. **54**(6): p. 1063-1070.
129. Schnuch, A., et al., *Experimental inhalation of fragrance allergens in predisposed subjects: effects on skin and airways*. Br J Dermatol, 2010. **162**(3): p. 598- 606.
130. Seeger, S., 2013: BAM, Berlin.
131. Langner, J., 2013, BAM, Berlin.
132. *Vergabegrundlage für Umweltzeichen in RAL-UZ 171*, 2012, RAL – Deutsches Institut für Gütesicherung und Kennzeichnung: Sankt Augustin.
133. Gerstel. *Thermal Desorption Unit TDU*. <http://www.gerstel.de/pdf/s00135-702-01-Supplies-TDU-de.pdf>.
134. Jerrett, M., et al., *Spatial analysis of air pollution and mortality in California*. American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine, 2013.
135. Jerrett, M., et al., *Long-term ozone exposure and mortality*. New England Journal of Medicine, 2009. **360**(11): p. 1085-1095.
136. Nitschke, L., 2013: Bayerisches Landesamt für Gesundheit und Lebensmittelsicherheit, München.
137. TSI, I., *Model 3090 Engine Exhaust Particle Sizer<sup>TM</sup> Spectrometer*, 2005.
138. Baron, P.A. and K. Willeke, *Aerosol Measurement: Principles, Techniques, and Applications (2nd Ed), Chapter 8 - Sampling and Transport of Aerosols*. Wiley, 2001.
139. [www.grimm-aerosol.com](http://www.grimm-aerosol.com).
140. Hu, J. and K.J. Gruber, *Positive and negative affect and health functioning indicators among older adults with chronic illnesses*. Issues in Mental Health Nursing, 2008. **29**(8): p. 895-911.

141. Jarvis, M.J., et al., *Comparison of tests used to distinguish smokers from nonsmokers*. American Journal of Public Health, 1987. **77**(11): p. 1435-1438.
142. Jordan, T., *Symptomatik und Mediatorfreisetzung nach nasaler Allergenprovokation*, in *Dissertation, LMU München* 2004.
143. ewc, *Eosinophiles kationisches Protein: Verlaufskontrolle der Therapie von Asthma-Kindern*. Dtsch Arztebl International, 1994. **91**(41): p. 2785.
144. Knobloch, H., Becher, G., Decker, M., Reinhold, P., *Evaluation of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and pH in exhaled breath condensate samples: methodical and physiological aspects*. Biomarkers, 2008. **13**(3): p. 319-341.
145. Kang, C.-M., J.-S. Han, and Y. Sunwoo, *Hydrogen peroxide concentrations in the ambient air of Seoul, Korea*. Atmospheric Environment, 2002. **36**(35): p. 5509-5516.
146. Claiborn, C.S. and V.P. Aneja, *Measurements of atmospheric hydrogen peroxide in the gas phase and in cloud water at Mt. Mitchell, North Carolina*. Journal of Geophysical Research: Atmospheres, 1991. **96**(D10): p. 18771-18787.
147. Ayers, G.P., et al., *The annual cycle of peroxides and ozone in marine air at Cape Grim, Tasmania*. Journal of Atmospheric Chemistry, 1996. **23**(3): p. 221-252.
148. Das, M. and V.P. Aneja, *Measurements and analysis of concentrations of gaseous hydrogen peroxide and related species in the rural Central Piedmont region of North Carolina*. Atmospheric Environment, 1994. **28**(15): p. 2473-2483.
149. Chapman, P., C. Reyes, and V. Gupta. *Normal Physiological Levels of Human Cytokines Using Bio-Plex Pro™ Cytokine Assays*. Tech note 6029 2010; [http://www.bio-rad.com/webroot/web/pdf/lsr/literature/Bulletin\\_6029.pdf](http://www.bio-rad.com/webroot/web/pdf/lsr/literature/Bulletin_6029.pdf).
150. Dressel, H., et al., *Akute Exposition gegenüber hypobarer Hypoxie bei Bergsteigern: Einfluss auf die kombinierte Diffusionskapazität von NO und CO*. Dtsch Ges Arbeitsmed Umweltmed, 2008. **48**: p. 360-361.
151. Niggemann, B., et al., *Twenty-four-hour time course of eosinophil granule proteins ECP and EPX during bronchial allergen challenges in serum of asthmatic children*. Allergy, 1994. **49**(2): p. 74-80.
152. Roquet, A., et al., *Eosinophil activity markers in peripheral blood have high predictive value for bronchial hyperreactivity in patients with suspected mild asthma*. Allergy, 1996. **51**(7): p. 482-8.
153. Vatrella, A., et al., *Serum eosinophil cationic protein (ECP) as a marker of disease activity and treatment efficacy in seasonal asthma*. Allergy, 1996. **51**(8): p. 547-55.
154. Stone, K.D., C. Prussin, and D.D. Metcalfe, *IgE, mast cells, basophils, and eosinophils*. The Journal of allergy and clinical immunology, 2010. **125**(2): p. S73-S80.
155. Vagaggini, B., et al., *Airway inflammatory response to ozone in subjects with different asthma severity*. Eur Respir J, 1999. **12**(2): p. 274-80.



156. Hiltermann, J.T., et al., *Ozone-induced inflammation assessed in sputum and bronchial lavage fluid from asthmatics: a new noninvasive tool in epidemiologic studies on air pollution and asthma*. Free Radic Biol Med, 1999. **27**(11-12): p. 1448-1454.
157. Kopp, M.V., et al., *Upper airway inflammation in children exposed to ambient ozone and potential signs of adaptation*. Eur Respir J, 1999. **14**(4): p. 854-61.
158. Sim, T.C., et al., *Proinflammatory cytokines in nasal secretions of allergic subjects after antigen challenge*. American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine, 1994. **149**(2): p. 339-344.
159. Agorastos, A., et al., *180. Circadian rhythmicity, variability and correlation of Interleukin-6 in plasma and cerebrospinal fluid of healthy humans*. Brain, Behavior, and Immunity, 2012. **26**, **Supplement 1**(0): p. S50.
160. Sothorn, R.B., et al., *Circadian characteristics of circulating interleukin-6 in men*. Journal of Allergy and Clinical Immunology, 1995. **95**(5): p. 1029-1035.
161. Vgontzas, A.N., et al., *Circadian interleukin-6 secretion and quantity and depth of sleep*. Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism, 1999. **84**(8): p. 2603-2607.
162. Sothorn, R.B., et al., *Circadian characteristics of interleukin-6 in blood and urine of clinically healthy men*. In vivo (Athens, Greece), 1995. **9**(4): p. 331-339.
163. Lehrer, P.M., et al., *Relaxation decreases large-airway but not small-airway asthma*. Journal of Psychosomatic Research, 1986. **30**(1): p. 13-25.
164. Huntley, A., A.R. White, and E. Ernst, *Relaxation therapies for asthma: a systematic review*. Thorax, 2002. **57**(2): p. 127-131.
165. Gaultier, C., et al., *Circadian rhythm of serum total immunoglobulin E (IgE) in asthmatic children*. Biomedicine & pharmacotherapy= Biomédecine & pharmacothérapie, 1987. **41**(4): p. 186.
166. Casale, G., et al., *Circadian rhythm of immunoglobulins in aged persons*. Age and Ageing, 1983. **12**(1): p. 81-85.
167. Nye, L., et al., *A detailed investigation of circulating IgE levels in a normal population*. Clinical & Experimental Allergy, 1975. **5**(1): p. 13-24.
168. Bullinger, M., *Assessing health related quality of life in medicine. An overview over concepts, methods and applications in international research*. Restor Neurol Neurosci, 2002. **20**: p. 93-101.
169. Dalton, P.H.a.C.J., *Responses to odors in occupational environments*. Curr Opin Allergy Clin Immunol, 2010. **10**(2): p. 127-132.
170. Lazarus, R.S., *Psychological stress and coping in adaptation and illness*. Int J Psychiatry Med, 1974. **5**: p. 321-333.



## H Danksagung

Ich möchte mich an dieser Stelle bei allen bedanken, die mich während der Entstehung der Arbeit unterstützt haben.

Für die wissenschaftliche Beratung und Unterstützung, sowie die Bereitstellung von Räumlichkeiten und Geräten danke ich

Herrn Prof. Dr. med. D. Nowak,  
Herrn PD Dr. rer. nat. Rudolf A. Jörres,  
Herrn Dr. rer. nat. R. Schierl,  
Herrn Dr. med. S. Karrasch,  
und Frau Dr. Dr. B. Herbig.

Außerdem bedanke ich mich bei den Mitarbeitern des Instituts und Poliklinik für Arbeits-, Sozial- und Umweltmedizin der LMU München

Frau D. de la Motte  
Frau G. Dietrich-Gümperlein,  
Herrn S. Peters  
und Frau A. Kronseder,

die mich äußerst hilfsbereit in Labormethoden und medizinische Untersuchungsverfahren eingewiesen haben.

Mein Dank gilt außerdem Herrn Dr. rer. nat. S. Seeger und Frau J. Langner, Bundesamt für Materialforschung und -prüfung, Berlin sowie dem Beraterkreis der Studie für hilfreiche Anregungen bei der Konzeption der Studie sowie der Diskussion der Daten, ebenso wie Mitgliedern der IRK-Kommission des Umweltbundesamtes.

Für die organisatorische Unterstützung danke ich Frau G. E. Hollweck, Frau G. Bähr und Frau E. Pfrogner, Klinik und Poliklinik für Hals-Nasen-Ohren-Heilkunde am Klinikum Großhadern der LMU München sowie Herrn F. Gerhardinger und Frau M. Drost, Ambulanz des Instituts für Arbeits-, Sozial- und Umweltmedizin der LMU München.

Für die finanzielle Unterstützung gilt mein Dank der Deutschen Gesetzlichen Unfallversicherung.

Außerdem bedanke ich mich bei allen Probanden, die bis zum Ende durchgehalten haben.

Weite Teile der Dissertation wurden mit meiner ausdrücklichen Einwilligung verwendet bei der Erstellung des Abschlussberichtes des Projektes für die DGUV, bei dem ich Koautorin bin. Diese Übernahme betrifft nicht die Vorstudie.